

ANNALES

DE

L'INSTITUT PASTEUR

RECHERCHES SUR L'ÉTOUFFAGE DES COCONS DE VERS A SOIE

ÉTUDE D'UN NOUVEAU PROCÉDÉ A BASE DE CHLOROPICRINE

par GABRIEL BERTRAND.

Lorsque les larves de *Bombyx mori* ou vers à soie ont terminé leur évolution, elles grimpent dans les rameaux de bruyère mis à leur disposition par l'éducateur et y construisent leurs cocons. Il leur faut trois à quatre jours pour achever ces abris protecteurs, trois autres jours pour s'y transformer en chrysalides. C'est à partir de ce moment que l'on peut déramer, c'est-à-dire détacher les cocons des rameaux, pour en tirer la soie. En pratique, on attend davantage, car tous les vers d'une éducation n'évoluent pas rigoureusement ensemble; il s'écoule environ trois jours entre la montée des premiers et celle des derniers. En fin de compte, ce n'est donc que dix à douze jours après le commencement de la montée à la bruyère que l'éducateur procède à la récolte des cocons.

Il faut alors, sauf lorsqu'il s'agit d'obtenir de la graine ou œufs de vers à soie, se hâter de traiter les cocons; sans cela, les papillons, venant à éclore, perceraient leur coque et la soie ne pourrait plus être filée. Le temps nécessaire à l'éclosion varie suivant la température; lorsque celle-ci se maintient, ce qui est ordinaire dans les régions à élevage, entre 27 et 30°,

il ne dépasse guère une douzaine de jours à partir de la récolte. On peut prolonger, comme l'a fait Boissier de Sauvages (1), jusqu'à un mois la naissance des papillons en gardant les cocons dans une cave fraîche.

Si l'on pouvait filer les cocons dans cet intervalle, on obtiendrait la plus belle soie et la plus facile à tirer, la colle ou grès qui unit les brins entre eux étant alors aisément attaquable par l'eau tiède. Mais il n'est pas possible, dans nos pays, de passer à la bassine tous les cocons d'une récolte pendant les dix à douze jours qui précèdent l'éclosion. On est donc obligé de tuer les chrysalides, de procéder à ce qu'on appelle « l'étouffage des cocons », pour avoir tout le temps nécessaire au filage.

* *

Le fil de soie est essentiellement formé de substances parentes de l'albumine, c'est-à-dire de substances assez altérables; aussi les procédés servant à l'étouffage des cocons doivent-ils être relativement doux, capables de tuer les chrysalides avec certitude, mais sans nuire ou dans une très petite mesure aux précieuses qualités de la soie. Pour être pratiques, ces procédés doivent encore tenir compte d'autres circonstances, telles que le prix de revient, la facilité d'exécution, etc.

Le problème n'est pas commode à résoudre et, trop souvent, on court le risque d'épargner une certaine proportion de chrysalides ou d'altérer notablement la matière soyeuse (2). Un grand nombre de solutions ont déjà été proposées; je les rangerai sous les dénominations :

1° de procédés physiologiques;

2° de procédés physiques;

et 3° de procédés chimiques.

(1) *Mémoires sur l'éducation des vers à soie*. Nîmes, t. 2, 1763, p. 143.

(2) Frédéric de Boullenois dit que l'étouffage des cocons « est une des opérations les plus délicates, les plus importantes et même les plus difficiles »... « et qui demande à être faite avec le plus de soin » (*Conseils aux nouveaux éducateurs de vers à soie*, 3^e édition, Paris, 1875, p. 213 et 231. Veuve Bouchard-Huzard, édit.). Et il ajoute : « Il faut avoir passé par là pour savoir ce qu'éprouve un éducateur novice qui croit avoir étouffé parfaitement ses cocons et qui, revenant quelques jours après pour les voir, les trouve tout percés et tout couverts d'affreux papillons dont l'action du feu a fait autant de monstres informes » (*Loc. cit.*, p. 213).

1^o Procédés physiologiques.

Un seul procédé pratique rentre, à la vérité, dans cette catégorie. Il est très ancien et originaire de la Chine. Il consiste à stratifier les cocons dans des vases de terre, jusqu'à remplissage, avec des feuilles de nénuphar et du sel, celui-ci en quantité suffisante pour combler les espaces libres. On ferme ensuite les vases d'une manière hermétique. Après sept jours, toutes les chrysalides sont mortes.

Il me paraît évident, malgré ce que certains auteurs ont pu dire de ce procédé, que les cocons sont étouffés par asphyxie, le peu d'oxygène disponible étant absorbé par la respiration combinée des chrysalides et des feuilles de nénuphar. Ce procédé ingénieux est considéré comme le meilleur par l'auteur chinois qui l'a décrit (1); il doit, en effet, conserver aux cocons toutes leurs qualités, mais il est trop lent et, pour d'autres raisons encore, d'ordre technique, ne saurait convenir à une exploitation industrielle.

C'est logiquement au même type d'étouffage qu'appartiennent les moyens proposés, de temps à autre, depuis une cinquantaine d'années, d'après lesquels on cherche à asphyxier les chrysalides sans altérer la soie, en plongeant les cocons dans une atmosphère de gaz neutre : anhydride carbonique, azote ou hydrogène, avec ou sans emploi accessoire du vide ou de la pression. Les chrysalides résistent assez longtemps à la privation d'oxygène et aucun des moyens ci-dessus n'a encore donné de résultat pratiquement utilisable.

2^o Procédés physiques.

Ces procédés reposent sur l'action de la chaleur, naturelle ou artificielle, sèche ou humide, sur l'action du froid et sur celle de la dessiccation dans le vide.

(1) Voir Stanislas JULIEN. *Résumé des principaux traités chinois sur la culture des mûriers et de l'éducation des vers à soie* (traduction). Imp. royale, Paris, 1837.

CHALEUR NATURELLE. — Anciennement, en Europe, on étouffait les cocons en les exposant plusieurs jours de suite à la plus grande ardeur du soleil, les y laissant chaque jour pendant quatre ou cinq heures. Boissier de Sauvages dit avoir éprouvé qu'il fallait bien moins de temps pour faire périr les chrysalides, que trois heures environ pouvaient même suffire, à la condition que la température du thermomètre s'élevât, par exposition directe, au-dessus de 50° (1).

Ce procédé rudimentaire a pour principal inconvénient de traîner en longueur lorsque les rayons du soleil deviennent moins ardents, de cesser même d'être applicable dès que le ciel est couvert. En outre, le rayonnement agit sur les cocons : non seulement d'une manière visible et immédiate, puisque les parties tournées vers le soleil sont rapidement décolorées (en moins d'une heure), mais encore d'une manière seulement appréciable dans la suite, le fil étant moins facile à dévider et plus fragile aux endroits directement et trop longtemps exposés.

CHALEUR ARTIFICIELLE. — L'inconstance des conditions de l'étouffage par insolation a conduit naturellement à l'emploi de la chaleur artificielle. Celle-ci est utilisée soit sous la forme de chaleur sèche, soit sous la forme de chaleur humide ; parfois même on fait agir successivement la chaleur humide, puis la chaleur sèche. Tous les procédés couramment mis en pratique aujourd'hui reposent sur l'emploi de la chaleur artificielle.

a) *Chaleur sèche.* — On l'appliquait souvent autrefois à l'aide du four de boulangerie. On plaçait d'abord les cocons dans de grandes mannes, d'environ 25 centimètres de profondeur ; ces mannes étaient tapissées à l'intérieur de gros papier dont on recouvrait même les cocons, pour arrêter les coups de feu et empêcher de roussir ou de griller ceux qui étaient les plus exposés. A défaut de mannes, on prenait des paniers, des corbeilles ou même des sacs. Un temps convenable après la sortie du pain, les cocons étaient introduits dans le four.

Il fallait porter une grande attention à ne pas brûler les cocons, soit par une chaleur trop élevée, soit par de la braise

(1) *Loc. cit.*, p. 145.

ou des cendres restées sur la sole, enfin, par une action trop prolongée.

Une température un peu forte, sans brûler absolument les cocons, pouvait encore faire éclater brusquement les chrysalides et gâter la soie par le liquide répandu.

D'après « l'Art de cultiver les mûriers blancs, d'élever les vers à soie et de tirer la soie des cocons » (1), il n'est guère possible de donner des règles, ni sur le degré de chaleur que le four doit avoir, ni sur la durée de l'opération. Il faut donc être très prudent quand on procède au fournoyage.

D'après Boissier de Sauvages, un des auteurs qui ont décrit le plus minutieusement le mode opératoire (2), la vraie température pour étouffer au four serait celle de l'eau bouillante. Les cocons l'attendraient, sans risque de la dépasser, lorsqu'on les met au four deux heures après avoir retiré le pain et qu'on les y laisse environ une heure, ou bien quand on les y place une heure après le pain tiré et pendant l'espace d'une demi-heure.

Pour s'assurer de ce degré de température, on avance la main dans la gueule du four. Si, ajoute Boissier de Sauvages, qui était abbé, on peut l'y tenir l'espace d'un *Ave Maria* ou — ceci est sans doute pour les mécréants — pendant quinze à vingt secondes, il n'y a rien à craindre pour les cocons.

Aujourd'hui on a renoncé à peu près complètement au four de boulangerie, dont le débit est d'ailleurs insuffisant, et l'on utilise, dans les filatures où le travail d'une région est en général centralisé, soit de grandes étuves à multiples casiers, soit des appareils à fonctionnement continu, comme ceux de Chiesa ou de Pellegrino. Dans certaines étuves ou avec les appareils sus-indiqués, les cocons sont d'abord étouffés, puis séchés jusqu'à évaporation complète de l'eau contenue dans les chrysalides. Bien entendu, dans ces installations modernes, la température d'étouffage doit être bien réglée et bien surveillée, sous peine d'atteindre à des désastres, à cause de l'importance des lots traités.

b) *Chaleur humide*. — Le procédé d'étouffage à la chaleur humide, dont la découverte revient aux Chinois, a comme

(1) Publié à Paris, 1757, p. 167.

(2) *Loc. cit.*, p. 146.

base l'action rapidement mortelle de la vapeur d'eau bouillante sur les chrysalides. On peut appliquer cette action de la manière suivante : au-dessus d'un grand chaudron, contenant de l'eau que l'on porte à l'ébullition, on pose un crible de forme et de grandeur telles que les bords s'adaptent à ceux du chaudron. Ce crible renferme les cocons. On recouvre le tout avec des planches, formant couvercle, et l'on s'arrange, par exemple à l'aide de linges entourant l'assemblage, pour que la vapeur ne puisse s'échapper qu'en traversant les cocons. On a pris la précaution de ne pas ajouter trop d'eau pour que le contenu du crible ne soit pas atteint par le liquide en ébullition. Lorsque la vapeur, confinée dans l'appareil et par suite très chaude, a bien pénétré les cocons, elle sort entre les planches du couvercle. On compte un certain temps, de cinq à dix minutes, et l'on arrête l'opération. Il faut chauffer assez longtemps pour tuer toutes les chrysalides, mais il ne faut pas trop dépasser le délai nécessaire, parce que la soie serait détériorée. La durée du chauffage varie suivant la hauteur de la couche de cocons placée dans le crible, l'épaisseur des coques, etc., et ne peut être déterminée exactement que par l'expérience.

Quand on enlève les cocons, ils sont imprégnés d'eau, glutineux et amollis. Il faut les laisser se ressuyer à l'air, sans les sortir du crible, jusqu'à ce que l'on puisse les manier sans crainte de les déformer. On les étale alors sur des claies où on les laisse sécher complètement.

On peut modifier de bien des manières l'installation qui vient d'être décrite. On peut remplacer le crible par un tonneau sans fond posé sur le récipient à eau bouillante; la partie inférieure est garnie de deux morceaux de bois en croix sur lesquels on place successivement plusieurs paniers ronds et de faible profondeur dans lesquels se trouvent les cocons. On couvre et conduit l'opération comme il a été indiqué plus haut. Mieux encore, au lieu d'un tonneau, on peut se servir d'une sorte d'armoire, dépourvue de fond à la partie inférieure, et garnie de cribles en forme de tiroirs. Dans certains établissements modernes, on utilise des étuves à compartiments où l'on envoie un courant de vapeur dérivé de la canalisation générale. On peut traiter ainsi commodément de grandes quantités de cocons.

Certains ont essayé d'étouffer les cocons en les plaçant dans des cylindres en métal qu'ils chauffaient au bain-marie. Ce procédé ne diffère ni en principe, ni par ses effets, de l'étouffage par la chaleur humide, car les cocons cuisent dans la vapeur dégagée par les chrysalides.

c) *Chaleur humide et chaleur sèche combinées.* — On a vu plus haut que les cocons traités par la vapeur sortaient de l'appareil d'étouffage dans un état d'humidité et de ramollissement qui rendait pendant quelques jours leur manipulation difficile. D'autre part, s'ils sont simplement étouffés, que ce soit à la chaleur humide ou à la chaleur sèche, les cocons doivent être complètement séchés, les chrysalides mortes et renfermant encore une forte proportion d'eau étant sujettes à fermenter et constituant, en outre, une cause de variation continue de poids gênante, tout au moins, pour les opérations ultérieures.

C'est pour remédier à ces inconvénients que l'on utilise quelquefois d'une manière successive les deux modes de chauffage. Les cocons sont répartis dans les casiers d'une grande étuve spécialement aménagée. Un système de trappes permet de faire circuler les gaz chauds, venant du foyer, soit autour des casiers et sans contact avec leur contenu, soit, au contraire, à travers ces casiers et les cocons qu'ils renferment. On chauffe d'abord, pour ainsi dire, en vase clos, de façon à cuire les cocons dans la vapeur qu'ils dégagent; ce qui permet d'atteindre une température voisine de 100° et uniformément répartie; puis, faisant jouer les trappes, on laisse la vapeur se dégager et l'on fait circuler l'air chaud à travers la masse des cocons. En quelques heures, les cocons sont étouffés et séchés.

FROID ARTIFICIEL. — L'abaissement de la température peut non seulement retarder le papillonnage, mais il peut encore, s'il est assez intense, faire périr les chrysalides. Aussi a-t-on proposé d'étouffer les cocons en les plaçant dans des chambres dont la température était abaissée à l'aide de machines frigorifiques. Ce procédé aurait le grand avantage de ne faire courir à la matière soyeuse aucun risque d'altération et de fournir des cocons aussi faciles à dévider que des cocons frais. Malheureusement, il n'est pas assez expéditif. D'après Loverdo, il est

nécessaire de maintenir les cocons entre -6° et -9° pendant dix jours ou à -4° pendant un mois. L'importance des installations qu'il faut établir pour traiter en temps voulu tous les cocons d'une récolte rend le procédé d'étouffage par le froid très onéreux et, dans l'état actuel des choses, inutilisable.

DESSICCATION DANS LE VIDE. — Divers expérimentateurs ont pensé que les cocons soumis à l'action du vide seraient rapidement étouffés, mais l'expérience a montré qu'il était loin d'en être ainsi : un séjour de plusieurs heures et même de plusieurs jours dans une cloche où l'on a diminué la pression avec une trompe à eau jusqu'à 3 ou 4 centimètres de mercure, n'empêche pas les chrysalides, ramenées à la pression ordinaire, de continuer leur évolution et de papillonner. Il en est autrement, comme l'a montré M. Levrat (1), quand on joint l'action d'une substance hygroscopique à celle du vide : les chrysalides se dessèchent et, par suite, ne tardent pas à mourir. Deux jours environ sont nécessaires pour arriver à la dessiccation complète.

Ce procédé serait encore meilleur que le précédent, puisqu'il permet à la fois d'étouffer et de dessécher les cocons sans altérer en rien les qualités de la matière soyeuse, mais il demande, malheureusement aussi, une installation trop coûteuse.

3° Procédés chimiques.

Ce sont ceux qui sont basés sur l'emploi d'une substance gazeuse ou volatile, susceptible de provoquer la mort des chrysalides par intoxication.

Dans la seconde moitié du XVIII^e siècle, les Etats de Languedoc, déjà frappés par les inconvénients du fournoyage, proposèrent à plusieurs reprises un prix à l'auteur d'un procédé aussi efficace pour tuer les chrysalides, mais ne faisant courir à la soie aucune diminution de quantité, ni de qualité. Le camphre, l'essence de térébenthine, etc., furent essayés, mais ne permirent pas d'arriver à la mort certaine des chrysalides.

Dans la suite, Beaumé préconisa l'emploi de l'alcool dans

(1) *Moniteur des soies*, n° 1773, 1896.

la proportion de 10 pintes pour 500 livres de cocons. D'après son mémoire des *Annales de Chimie*, les cocons sont placés par couches successives dans une caisse; on arrose et mélange chaque couche avec une partie de l'alcool; on ferme hermétiquement, puis on laisse agir pendant vingt-quatre heures. Après ce temps, on sort les cocons et on les étale sur des claies, jusqu'à dessiccation complète. La soie obtenue de ces cocons est, d'après Beaumé, de même qualité et de même quantité que celle des cocons frais (1). Pour des raisons que je n'ai pas vu indiquer, ce moyen ne semble pas avoir eu d'application à l'époque. Aujourd'hui, il serait trop coûteux à cause du prix de l'alcool et de la proportion relativement élevée de ce liquide qu'il faut ajouter aux cocons.

Si l'on en juge d'après un ouvrage publié par Francesco Gera, à Milan, en 1828, des essais d'étouffage ont dû être tentés en Italie à l'aide de substances volatiles et toxiques, telles que l'ammoniaque gazeuse, l'anhydride sulfureux, les vapeurs de pétrole, l'hydrogène sulfuré et même l'acide chlorhydrique. Toutefois, l'auteur ne cite expressément aucune expérience et déclare que l'usage des substances chimiques énumérées ne s'est pas répandu (2).

D'Arcet a pensé que l'on parviendrait bien à étouffer les chrysalides avec les gaz provenant de la combustion du soufre. L'opération aurait lieu dans la magnanerie à ventilation forcée qu'il a décrite en 1836. On étalerait les cocons sur les grillages, on allumerait du soufre dans un vase en terre fortement échauffé d'avance, puis placé en tête de l'appareil, dans le conduit par lequel le courant d'air pénètre dans le calorifère, et on mettrait le tarare en mouvement jusqu'à ce que les chrysalides des cocons pris au bas du tuyau, à la sortie de l'appareil, soient tout à fait mortes. D'Arcet croit que l'on étoufferait ainsi très promptement les chrysalides sans trop dessécher les cocons. Il ajoute que « si l'on craignait l'action ultérieure de l'acide sulfureux dont les cocons seraient pénétrés et qui pourrait, à la longue, nuire à la qualité de la soie, on remédierait facilement à cet inconvénient en faisant succéder au dégage-

(1) *Annales de Chimie*, 17, 1793, p. 156.

(2) *Saggio sulla trattura della Seta*.

ment de l'acide sulfureux une fumigation ammoniacale » (1). Il est bien probable que le procédé de d'Arcet n'a pas été appliqué ou qu'il n'a donné que de mauvais résultats, le gaz sulfureux et le gaz ammoniac attaquant chacun la soie pour leur compte, comme on l'a démontré plus tard.

Les résultats avantageux que l'on pouvait espérer de l'emploi des gaz et des vapeurs toxiques pour l'étouffage des cocons, opposés aux inconvénients certains dus à celui de la chaleur, ont incité, à nouveau, en 1877, plusieurs expérimentateurs à reprendre l'étude de l'étouffage chimique. Dans deux brevets, pris la même année, Lamonta a proposé trois liquides : la solution de bichlorure de mercure à 20 p. 100 dans l'alcool à 90°, l'éther sulfurique et l'ammoniaque à 20° (2), tandis que Gautier a préconisé le gaz ammoniac, l'acide sulfureux et l'acide carbonique (3).

Francezon a fait remarquer avec justesse au sujet de ces brevets que la solution de bichlorure de mercure est trop dangereuse à manier, que l'alcool et l'éther sont des substances trop coûteuses pour être utilisées. Quant aux gaz, il en a étudié l'action d'une façon particulière, en élargissant la question autant que cela lui paraissait désirable, et voici ce qui est résulté de ses expériences :

L'oxygène, l'hydrogène, le protoxyde d'azote, l'acide carbonique, même le gaz d'éclairage et l'oxyde de carbone ne peuvent servir à l'étouffage; les chrysalides en supportent longtemps le contact sans mourir.

L'ammoniac, l'hydrogène sulfuré et l'acide sulfureux sont les seuls gaz mortels pour les chrysalides parmi les neuf qui ont semblé pouvoir être essayés avec quelque chance de succès, mais ils attaquent tous l'enveloppe soyeuse : les cocons ne sont pas décolorés, mais ils deviennent plus difficiles à filer et les rendements sont plus bas qu'avec les cocons étouffés à la vapeur. Quand on s'est servi de l'ammoniac, la soie produite a un toucher rude, comme celui du crin; quand on a utilisé l'hydrogène

(1) *Description des appareils de chauffage à employer dans les magnaneries, suivie de quelques renseignements sur l'emploi du tarare et sur l'étouffement des cocons.* Paris, 1841, Carilian-Goury et Dalmont, édit.

(2) Brevet n° 116.930 du 15 février 1877.

(3) Brevet n° 117.851 du 7 avril 1877.

sulfuré et l'acide sulfureux, elle est couverte de duvets. C'est avec le dernier gaz que le résultat est le plus mauvais; il est même parfois désastreux (1). Cette action néfaste de l'acide sulfureux sur la soie a été confirmée par les recherches entreprises au Laboratoire d'études de la soie de Lyon, lorsque, à la suite de l'épidémie de choléra de 1884-1885, les cocons transitant par la Sicile étaient soumis à une fumigation dans une chambre close où l'on brûlait 30 grammes de soufre par mètre cube (2).

Plus récemment, MM. Conte et Levrat ont essayé l'acide cyanhydrique gazeux, dégagé par l'action de l'acide sulfurique sur le cyanure de potassium. Leurs expériences ont porté sur trois échantillons de cocons. Chaque échantillon a été divisé en deux lots, dont l'un a été étouffé sous cloche par l'acide cyanhydrique et l'autre, servant de témoin, par l'air chaud à $+120^{\circ}$.

Les propriétés physiques de la soie grège se sont montrées sensiblement les mêmes avec les deux procédés, mais les rendements des lots étouffés par l'acide cyanhydrique ont été d'environ 12 p. 100 inférieurs à ceux des lots témoins (3).

Etant donné le grand danger du maniement de l'acide cyanhydrique qui est, comme on sait, éminemment toxique pour l'homme, il ne semble donc pas qu'il y ait lieu de s'intéresser à ce mode d'étouffage.

En résumé, des nombreux moyens qui ont été essayés pour faire périr les chrysalides sans altérer la soie, ceux qui sont basés sur l'action de la chaleur, sèche ou humide, ont seuls résisté à la pratique moderne des pays d'Europe. Encore, ces moyens ne sont-ils pas exempts de certains défauts et demandent-ils à être appliqués avec de grandes précautions : si l'on ne chauffe pas assez, et cela dépend, comme on l'a vu, de bien des conditions, toutes les chrysalides ne sont pas tuées et l'on perd une partie des cocons; si l'on chauffe trop, la coque est altérée et les rendements en soie sont amoindris. Dans tous

(1) Notes pour servir à l'étude de la soie suivies d'une étude sur les étouffoirs chimiques. Lyon, 1880, *Le Moniteur des soies*, édit.

(2) *Comptes rendus des travaux du Laboratoire d'Etudes de la soie*. Lyon, 1887, p. 34.

(3) *Rapports du Laboratoire d'Etudes de la soie*, 12, 1903-1904-1905. Lyon, 1906.

les cas, la matière protéique qui sert de colle au fil de soie ayant subi une coagulation, le dévidage des cocons chauffés est moins facile que celui des cocons frais.

Mais ce n'est pas tout. Les petits éducateurs, ne voulant pas courir les risques de l'étouffage, se trouvent dans l'obligation de vendre leurs cocons aussi vite que possible après la récolte et, trop souvent alors, ils deviennent la proie d'intermédiaires avides. Les filateurs et les graineurs, qui étouffent en grand, trouvent de leur côté que le combustible commence à coûter cher.

Il ne manque donc pas de raisons pour inciter les chercheurs à découvrir un nouveau procédé d'étouffage des cocons de vers à soie.

Recherches personnelles.

Ayant reconnu dans la chloropicrine (ou nitrochloroforme) un agent insecticide très puissant (1), dépourvu, en outre, d'action coagulante à l'égard des matières protéiques, j'ai pensé que l'on pourrait peut-être trouver dans cette substance le moyen de tuer les chrysalides avec certitude sans avoir à craindre d'altérer en même temps la matière soyeuse. C'est ce qui m'a engagé dans l'étude dont je publie aujourd'hui les résultats. Cette étude montrera qu'en dépit des insuccès antérieurs on aurait eu tort de renoncer d'une manière définitive à l'emploi des substances chimiques pour l'étouffage des cocons.

PERMÉABILITÉ DES COCONS.

La première condition à rencontrer pour obtenir la mort facile des chrysalides était une perméabilité suffisante des coques aux vapeurs de la chloropicrine. Or, non seulement cette condition n'était pas évidente *a priori*, mais certains observateurs avaient admis que l'emploi des agents gazeux était resté sans résultats parce que l'insecte était préservé par sa coque (2).

(1) Gab. BERTRAND. *Comptes rendus Ac. Sc.*, **163**, 1919, p. 142.

(2) Voir notamment : MOYRET. *Traité de la teinture des soies*, p. 60.

Quand on examine un cocon de ver à soie, on remarque d'abord que sa coque est résistante, formée d'un feutrage extrêmement serré et qu'il est complètement insubmersible. Après l'avoir ouvert, on observe que la face intérieure est lisse, comme vernissée. On peut alors penser que tous ces caractères conviennent parfaitement au rôle protecteur dévolu à la coque et que, peut-être, des molécules de vapeur aussi grosses que celles de la chloropicrine doivent être assez facilement arrêtées. Mais en étudiant la chose de plus près, on trouve que non seulement la coque est assez perméable pour suffire aux échanges gazeux qui correspondent à la respiration de l'insecte, mais que sa perméabilité est telle que l'on peut souffler à travers un cocon, en plaçant une des extrémités entre les lèvres, sans éprouver, pour ainsi dire, de résistance.

Ce fait surprenant tient à la structure très particulière de la coque. Le fil sécrété par le ver n'est pas enroulé en spires parallèles et soudées les unes contre les autres, ce qui donnerait une enveloppe continue et ne laissant plus passer les gaz que par diffusion. Il est façonné, comme l'a vu d'abord Duseigneur-Kléber (1), en petites boucles ou paquets en forme de 8, soudées les unes à côté des autres, de manière à donner une première enveloppe, ajourée comme une gaze, contre laquelle le ver applique successivement une série d'enveloppes nouvelles, de constitution identique et seulement, au fur et à mesure, un peu plus serrée. J'ai séparé les unes des autres avec beaucoup de précautions un certain nombre de ces enveloppes. Voici l'une de celles qui occupaient le milieu de l'épaisseur de la coque, vue à d'assez forts grossissements (fig. 1 et 2). Il en résulte que la coque est finement et régulièrement ajourée, qu'elle peut arrêter les poussières mécaniquement à la façon d'un crible, l'eau par suite des forces capillaires, mais qu'elle ne doit apporter presque aucune résistance au passage des gaz et des vapeurs.

L'expérience suivante m'a permis de vérifier à quel point cette résistance était réduite.

Un cocon a été ouvert en découpant une calotte à une extrémité retenue par une partie de son bord, formant charnière,

(1) *Le cocon de soie*. Paris, 1875, Rothschild, édit.

ainsi que le montre la figure 3. La chrysalide a été extraite par l'ouverture et remplacée par cinq larves de *Livrée* des

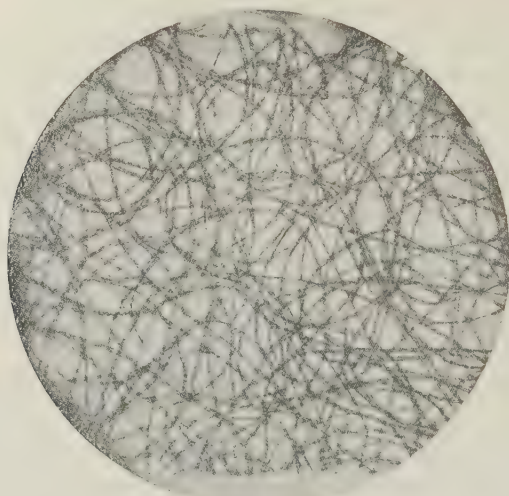


FIG. 1. — Grossissement : 15 diamètres.

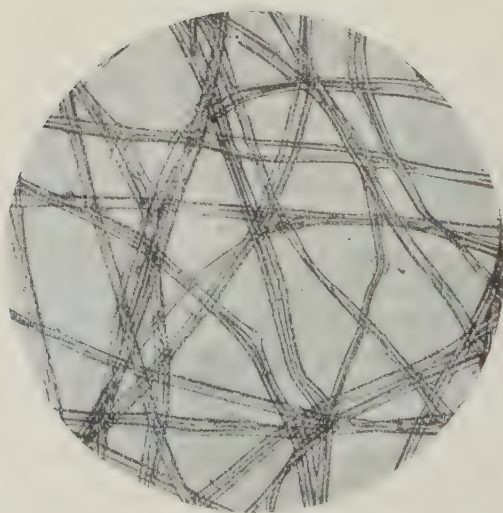


FIG. 2. — Grossissement : 60 diamètres.

arbres, espèce sur laquelle j'avais étudié en détail les effets de la chloropierine. Le cocon a été ensuite refermé en abaissant la

calotte et en soudant les bords de la fente avec un filet de paraffine (fig. 4).

D'autre part, cinq larves de Livrée des arbres du même élevage ont été placées dans un petit nouet de gaz à dix mailles par centimètre.

Le cocon et le nouet suspendus à l'aide d'un fil ont alors été descendus au centre d'un grand flacon où l'on avait préalablement volatilisé 0 gr. 01 de chloropierine par litre. La température étant de $+22^{\circ}$, on a laissé agir pendant dix minutes,



FIG. 3. — Cocon ouvert pour enlever la chrysalide.



FIG. 4. — Cocon refermé emprisonnant des larves de Livrée des arbres.

puis on a retiré les larves que l'on a mises ensuite en observation. Voici ce que l'on a constaté :

A l'ouverture du cocon, comme du nouet, les larves étaient presque inanimées ou se mouvaient faiblement. Après une dizaine de minutes, les larves ne bougeaient plus du tout, sauf une qui s'était contractée un moment avec assez de force et qui avait quelques mouvements peu prononcés. Aucune larve n'était morte un quart d'heure après la sortie du flacon ; toutes réagissaient encore à l'excitation.

Dans les premières heures qui ont suivi, quelques larves se sont plus ou moins ranimées ; une du cocon est morte après une heure quarante. Le lendemain matin, dix-huit heures après la sortie de l'atmosphère toxique, les cinq larves du nouet et quatre du cocon étaient mortes. La dernière, presque immobile, a succombé cinq jours plus tard, sans avoir, comme c'est la règle dans les cas analogues, touché aux feuilles qui lui avaient été offertes.

Dans cette expérience où la dose de chloropierine et la durée d'action avaient été choisies de manière à correspondre à une

intoxication en quelque sorte limite permettant de mieux juger des différences, on peut dire, surtout en comparant ses résultats avec ceux de nombreuses expériences antérieures sur la Livrée des arbres, que les larves enfermées dans le cocon ont été, à très peu près, intoxiquées comme celles contenues dans le nouet et celles qui sont entièrement libres.

ACTION DE LA CHLOROPICRINE SUR LES CHRYSALIDES.

Ce point étant acquis, il était possible d'envisager la possibilité de se servir de la chloropicrine pour l'étouffage des cocons. Il fallait maintenant déterminer les doses et les durées d'action nécessaires pour atteindre sûrement la mort des chrysalides.

Mes premières recherches ont été faites en 1919 sur des cocons qui m'avaient été envoyés de l'Ardèche par M. Chabaud (de Vagnas), et du Var par M. Brandi (de Draguignan). Je tiens à remercier ces messieurs de l'intérêt qu'ils ont porté dès le début à mes recherches.

Voici comment j'opérais : Dans un grand flacon à large ouverture dont la capacité, une fois bouché, était de 6.220 cent. cubes, je versais de la chloropicrine avec une pipette très effilée, versant des gouttes du poids de 0 gr. 0062 (à $1/10^e$ de milligramme près). J'avais réalisé cette pipette en procédant par tâtonnements. Dans ces conditions, chaque goutte de chloropicrine équivalait à une proportion de 0 gr. 001 par litre d'atmosphère toxique. Pour obtenir une bonne répartition de la vapeur, le liquide était versé sur le deuxième tiers supérieur de la paroi, le flacon étant penché et tourné continuellement autour de son axe pendant la chute des gouttes ; puis, le bouchon mis en place, on retournait et agitait le flacon en tous sens pendant deux ou trois minutes, à plusieurs reprises, durant l'espace d'un quart d'heure. C'est seulement alors que les cocons étaient introduits au nombre de dix dans chaque expérience. Afin de les maintenir en pleine atmosphère, ils étaient suspendus en chapelet le long d'un fil, celui-ci passé à l'aide d'une aiguille à travers la partie superficielle de la coque. Un long bout du fil sortait du flacon, coincé entre le col et le bouchon de liège. Un thermomètre fixé dans l'axe du bouchon permettait de connaître la température.

Après chaque expérience, l'atmosphère du flacon était complètement débarrassée de vapeur de chloropicrine par le jet d'air d'une soufflerie.

Quand on introduit un chapelet de cocons dans l'air contenant de la chloropicrine et que l'on observe attentivement ce qui se passe, on ne tarde pas, en général, à voir que tantôt un cocon, tantôt un autre, est agité de petits mouvements saccadés, parfois d'une espèce de vibration passagère provoqués par la vapeur toxique. Ces mouvements se reproduisent de plus en plus éloignés et de moins en moins appréciables jusqu'à l'intoxication définitive des chrysalides.

Presque aussitôt après leur sortie du flacon, les cocons perdent leur odeur de chloropicrine. On les a mis dans des boîtes plates pour les surveiller. Quand l'action de la vapeur avait été insuffisante on constatait, en allant de l'action la plus faible à la plus forte, depuis une éclosion partielle des papillons jusqu'à quelques sorties incomplètes. Les papillons issus de chrysalides mal étouffées avaient presque toujours les ailes plus ou moins atrophiées et déformées. Ceux qui provenaient de chrysalides ayant subi une action plus profonde, quoique insuffisante, étaient si faibles qu'ils arrivaient seulement à percer l'extrémité de leur cocon, sans pouvoir en sortir. Enfin, lorsque l'action était encore en deçà, mais très voisine de l'action léthale, le papillon mouillait et tachait l'extrémité du cocon vers laquelle il avait la bouche tournée, mais il restait complètement enfermé. Comme la sensibilité des chrysalides varie un peu d'un individu à un autre, il y a presque toujours, dans un même lot incomplètement étouffé, des chrysalides aux différents états que je viens de décrire.

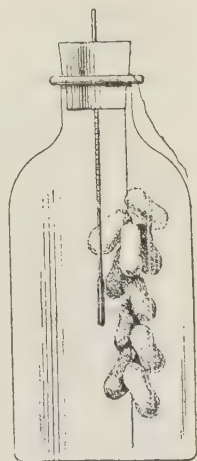


FIG. 5.

EXPÉRIENCES DE 1919. — Je ne donnerai pas le tableau détaillé des 23 expériences que j'ai faites en 1919; ce serait un peu long et d'autant moins utile que ces expériences n'ont servi, en somme, qu'à m'orienter pour la saison suivante. Les résultats

de ces expériences peuvent se résumer de la manière suivante :

Du 11 au 14 juin, j'ai essayé, sur les cocons de l'Ardèche, les doses de 10 à 50 milligrammes de chloropicrine par litre et les durées d'action de dix minutes à trois heures et demie. La température dans le flacon n'a varié que de $+ 24$ à $+ 25^{\circ}$. La dose de 10 milligrammes, insuffisante après une demi-heure d'action, a tué les chrysalides après une heure. La dose de 20 milligrammes a été insuffisante après dix minutes, mais suffisante, après vingt minutes. Enfin, la dose de 50 milligrammes a produit une action complète après dix minutes seulement.

Au commencement du mois de juillet, j'ai essayé, sur les cocons du Var (race polyjaune de la station séricicole de Draguignan), les doses de 5 à 20 milligrammes par litre et les durées d'action de dix minutes à trois heures. La température dans le flacon est restée comprise entre $+ 18^{\circ}5$ et $+ 19^{\circ}$. La dose de 5 milligrammes s'est montrée insuffisante, même après trois heures d'action. La dose de 10 milligrammes après une demi-heure et celle de 20 milligrammes après vingt minutes. Mais la dose de 20 milligrammes a tué toutes les chrysalides après une demi-heure.

Dans ces expériences, la sortie des papillons provenant de cocons incomplètement étouffés a présenté un retard, pouvant atteindre plusieurs jours, par rapport à la sortie des papillons issus de cocons non traités, conservés comme témoins.

Les résultats obtenus dans ces expériences étaient très encourageants, mais ils n'avaient pas de caractère définitif : d'abord les cocons dont je m'étais servi avaient subi un transport par poste et celui-ci pouvait avoir influencé d'une manière appréciable la sensibilité des chrysalides ; ensuite, le délai qui sépare la récolte de l'éclosion spontanée, déjà très court, étant diminué du nombre de jours nécessaire au transport, je ne pouvais opérer que sur des cocons un peu avancés. Or, il était indispensable de savoir si la sensibilité des chrysalides reste à peu près constante ou si elle varie avec leur degré de maturation. Dans ce dernier cas, il fallait déterminer la grandeur de la variation. Il fallait aussi répéter les expériences sur des races diverses de cocons, voir comment les doubles, dont la coque

est plus épaisse, se comportent par rapport aux cocons normaux, etc... En outre, comme le problème de l'étouffage ne consiste pas seulement à détruire la vitalité des chrysalides, mais, ce qui est plus difficile, à assurer cette destruction sans nuire aux remarquables propriétés de l'enveloppe soyeuse, il y avait encore à examiner comment les cocons traités se conduisent à la filature, à étudier les propriétés de la soie, et ces nouveaux points, de préférence, par comparaison avec les résultats obtenus à l'aide des méthodes habituellement en usage.

Toutes ces recherches, et surtout les premières, ne pouvaient être réalisées que sur les lieux mêmes où l'on élève les vers à soie et où l'on traite les cocons. Mais l'époque de la montée des vers coïncide généralement avec la période des examens à la Sorbonne; de ce fait, j'ai dû attendre jusqu'en 1922 pour continuer mes expériences.

EXPÉRIENCES DE 1922. — Elles ont été réalisées dans le Var, à la station séricicole de Draguignan, où j'ai reçu de M. Brandi, directeur de la station, une aide aussi active que désintéressée et le meilleur accueil.

Les expériences d'étouffage par la chaleur sèche et par la chaleur humide ont été effectuées à Cotignac, dans l'établissement de grainage de M. Laugier fils. Enfin, les essais de filature et l'étude comparative des soies ont été exécutés obligeamment à la Condition publique des Soies de la ville de Lyon, par M. Levrat, sous la direction éclairée de M. Testenoire. Je suis heureux de pouvoir témoigner ici à tous ces collaborateurs mes meilleurs remerciements.

INFLUENCE DE L'ÂGE DES COCONS SUR LA SENSIBILITÉ A LA CHLOROPICRINE. — Tout en répétant mes expériences de 1919 sur des cocons intacts, n'ayant subi aucun des avatars auxquels les expose le transport par poste, je me suis préoccupé de rechercher si les mêmes conditions de dose et de durée d'action s'appliquaient aux cocons récemment récoltés et à ceux qui sont plus âgés.

Pour ces expériences, j'ai opéré sur des cocons de la race Bagdad, dont j'ai pu traiter le même jour, le 24 juin, un lot

provenant d'une montée du 7 et un lot provenant d'une montée du 14. A cette fin, des chapelets de 10 cocons chacun ont été préparés avec du fil blanc pour le premier lot, et du fil noir pour le second. Les chapelets ont été introduits par paires, côte à côte, dans le flacon, retirés après un certain nombre de minutes et mis en observation au laboratoire de la station, autant de jours qu'il a été nécessaire.

EXPÉRIENCE I. — Chloropirine : 30 milligrammes par litre. Durée d'action : trente minutes. Température : + 24°8. Toutes les chrysalides ont été tuées.

EXPÉRIENCE II. — Chloropirine : 20 milligrammes par litre. Durée d'action : soixante minutes. Température : + 23°5. Toutes les chrysalides ont été tuées.

EXPÉRIENCE III. — Chloropirine : 20 milligrammes par litre. Durée d'action : trente minutes. Température : + 23°. Toutes les chrysalides ont été tuées.

EXPÉRIENCE IV. — Chloropirine : 20 milligrammes par litre. Durée d'action : quinze minutes. Température : + 24°5. Toutes les chrysalides de la montée du 7 juin ont été tuées, mais celles de la montée du 14 ont en partie résisté : le 7 juillet, un papillon malformé est sorti, un autre a percé sa coque sans pouvoir aller plus avant; le 8, un troisième papillon a aussi percé sa coque sans sortir davantage que la tête.

Pendant le séjour des cocons dans la vapeur de chloropirine, j'avais noté que les cocons les plus jeunes, ceux de la récolte du 14 juin, s'agitaient plus longtemps que les cocons de la récolte du 7. Ils étaient, en effet, un peu plus résistants, ainsi qu'en témoigne le résultat de l'expérience 4, dans laquelle l'action de la vapeur avait été intentionnellement limitée.

ÉTOUFFAGE COMPARATIF DE PLUSIEURS RACES DE COCONS PAR LA CHLOROPICRINE ET PAR LA CHALEUR, SÈCHE OU HUMIDE. — Ces expériences ont porté sur trois races de cocons : or Chine (montée du 10 juin); Ascoli (montée du 6 juin) et Gubbio (montée du 8 juin). Ces cocons ont d'abord été triés avec soin pour éliminer tous les doubles, les morts, les satinés, et divisés immédiatement en plusieurs lots d'un kilogramme et on les a étouffés comparativement par la chloropirine, par la chaleur sèche et par la chaleur humide.

Pour l'étouffage à la chloropirine, un lot de Chine et un lot d'Ascoli ont été traités en deux fois dans un flacon de

6 litres, de la manière suivante : la moitié du lot, remplissant le flacon à peu près aux deux tiers (plus ou moins suivant la race), a été additionnée de 0 c. c. 6 de chloropicrine. Ce liquide n'a pas été versé directement sur les cocons, mais sur un morceau de papier Joseph. On a remué le tout pendant cinq minutes, pour assurer l'évaporation et la répartition aussi régulière que possible de chloropicrine, puis on a laissé agir (en remuant encore deux fois, à vingt minutes d'intervalle, pendant quelques minutes). Après une durée d'action d'une heure, les cocons ont été vidés en plein air sur une claie où ils ont perdu presque aussitôt toute odeur de chloropicrine.

Le lot de la race Gubbio a été traité en une seule fois dans une caisse en bois blanc de 39 lit. 48 de capacité. Cette caisse avait été rendue à peu près étanche par encollage, sur toute sa surface intérieure, à la colle de pâte, d'une feuille de papier de moyenne épaisseur. Au kilogramme de cocons on a ajouté 1 c. c. 2 de chloropicrine, versé sur une bande de papier Joseph. Après fermeture de la caisse, on a remué comme pour les étouffages dans le flacon. Température pendant l'opération : $+ 22^{\circ}$. L'odeur de chloropicrine a également disparu aussitôt après l'épandage des cocons sur la claie.

L'aspect des cocons était alors en tout semblable à celui des cocons non traités : couleur, toucher, résistance, etc. On a finalement transporté les cocons au séchoir, comme s'il s'était agi de cocons étouffés par la chaleur, et on les y a laissés jusqu'à constance du poids, c'est-à-dire réduction au tiers du poids primitif. M. Brandi a bien voulu se charger de cette dernière partie de l'opération et m'envoyer les cocons lorsqu'elle a été terminée.

Durant ce temps, des lots d'un kilogramme des mêmes cocons ont été soumis en ma présence à Cotignac, dans les établissements de M. Laugier, soit à l'étouffage par la chaleur sèche, soit à l'étouffage par la vapeur, sans changement à la technique courante ; après séchage complet à l'établissement, ces cocons m'ont été envoyés comme les précédents.

EXAMEN DES COCONS AU LABORATOIRE. — Comme je l'ai déjà mentionné, les cocons étouffés à la chloropicrine ont, au premier aspect, tous les caractères des cocons vivants : leur cou-

leur, si fragile, est absolument la même ; ils ont aussi le même brillant, la même douceur au toucher ; bref, ils semblent n'avoir subi aucun traitement. Ce n'est pas le cas, comme on sait, des cocons tués par la chaleur, sèche ou humide. Au premier examen, le procédé d'étouffage à la chloropicrine paraît donc tout à fait satisfaisant. Mais l'aspect des cocons, aussi favorable soit-il, ne suffit pas pour juger la valeur du nouveau procédé. Il faut examiner comment les cocons se comportent à la bassine, déterminer leur rendement en soie grège, étudier les qualités, résistance, élasticité, etc., de celle-ci, voir ce qu'elle devient au décreusage, se rendre compte, enfin, si le temps agit d'une façon particulière sur son état de conservation.

Avant d'envoyer les lots à la Condition publique des Soies, j'ai recherché si les cocons traités par la chloropicrine ne renfermaient pas des traces de cette substance ou d'une substance dérivée dont la vapeur pourrait gêner les opérations de la filature. *A priori*, il ne semblait pas qu'il devait en être ainsi, puisque, le fait a été rapporté plus haut, les cocons perdent toute odeur dès les premiers instants qui suivent leur sortie de l'atmosphère étouffante. De plus, nous avons constaté, M. Brandi, deux de ses inspecteurs (MM. Souliers et Casile) et moi-même, à la station séricicole de Draguignan, que l'on pouvait plonger la figure les yeux ouverts dans les cocons traités de la veille, sans ressentir, aussi longtemps qu'on y restait, aucune sensation irritante ou désagréable, ni au nez, ni à la gorge, ni aux yeux. J'ai tenu, cependant, à confirmer cette innocuité par une recherche plus précise et plus sensible.

J'ai soumis à la distillation avec de l'eau, dans un grand ballon, en rectifiant les vapeurs avec un réfrigérant ascendant en verre de Schlœsing, plusieurs centaines de cocons : ni l'air déplacé au commencement de l'ébullition, ni les premières portions du liquide condensé ne présentaient la moindre odeur ou action irritante de chloropicrine ou d'une substance analogue. La recherche du chlore combiné dans le liquide, même après chauffage avec de la potasse, n'a pas donné, non plus, le moindre résultat.

En conséquence, j'ai envoyé, en toute tranquillité à Lyon, les lots de cocons étouffés par la chloropicrine en même temps que

ceux étouffés par la chaleur. Au moment où ces lots ont été examinés à la Condition, il y avait environ cinq mois qu'ils avaient été étouffés. C'est avec intention que j'avais attendu ce délai, afin de rendre plus manifeste, au cas où elle se serait produite, une action nocive de la vapeur de chloropicrine sur la soie. On sait que, dans les filatures, les cocons étouffés aussitôt après leur récolte ne sont passés à la bassine qu'au fur et à mesure dans les mois suivants. Voici les résultats qui m'ont été transmis par M. Testenoire, directeur de la Condition (1).

**Rapport du Laboratoire de la Condition publique des Soies
de Lyon.**

CONDITION PUBLIQUE DES SOIES

Lyon, le 8 janvier 1923.

**Laboratoire
D'ÉTUDES DE LA SOIE**

7, rue Saint-Polycarpe, LYON.

A M. G. Bertrand, professeur à la Faculté
des Sciences, Institut Pasteur, 28, rue
Dutot, Paris (XV^e).

Chambre de Commerce de Lyon.

Cher Monsieur,

Nous avons terminé les essais que nous avons entrepris sur votre demande du 2 décembre, afin que vous puissiez vous rendre compte de l'influence de la *chloropicrine* utilisée par vous pour l'étouffage des cocons.

Les matériaux que nous avons reçus le 8 décembre comprenaient :

Trois qualités de cocons: Ascoli, Gubbio et or Chine. Chaque qualité avait été partagée par vous en trois lots, étouffés respectivement :

Le premier par la chaleur sèche,

Le deuxième par la chaleur humide,

Le troisième par la chloropicrine.

Soit 3 lots de trois sortes chacun.

A l'arrivée des cocons nous avons constaté que 8 lots sur 9 avaient été attaqués par des dermestes; cinq de ces insectes ont été trouvés vivants.

Ces constatations faites, nous avons trié chaque lot de façon à séparer les cocons bons à filer des cocons piqués par les insectes, et des cocons le plus visiblement tachés, trouvés dans les deux lots 3 et 9. Nous avons également conservé quelques cocons comme témoins. Chacune de ces divisions a été pesée à part. Nous avons alors procédé aux essais suivants :

(1) J'ai éliminé de ce rapport quelques observations relatives à des cocons décolorés par l'action directe des rayons solaires et qui ne doivent pas entrer ici en ligne de compte.

I. — ESSAIS DE FILATURE.

On a effectué sur chaque lot un essai de filature à la bassine industrielle sur la totalité des cocons classés *bons à filer*.

La filature a été faite à quatre bouts de cinq cocons chacun, dont on a recueilli et pesé la soie grège et les frisons obtenus.

Voir les résultats de ces essais de filature dans les trois tableaux suivants :

Race Ascoli.

	LOT 1 CHALEUR SÈCHE		LOT 2 CHALEUR HUMIDE		LOT 3 CHLOROPICRINE	
	Nombre de cocons	Poids en grammes	Nombre de cocons	Poids en grammes	Nombre de cocons	Poids en grammes
Cocons bons à filer	520	330	480	305,2	470	299
Cocons percés par les der- lestes	3	1,4	2	1,1	»	»
Cocons présentant des taches blanches	»	»	»	»	48	30,5
Lot témoin	23	14,8	20	13,2	21	14
	546	346,2	502	319,5	539	343,5
Soie grège		101,1		94,1		93,1
Frisons		18		16,7		14,1
Rentrée (1)	3,26		3,24		3,21	

(1) La *rentrée* ou *rendement* en filature indique le nombre de kilogrammes de cocons qu'il faut filer pour obtenir un kilogramme de soie grège ou brute.

Résultats et observations sur la filature.

Il résulte des chiffres ci-dessus que le rendement à la filature n'a pas été diminué par l'étouffage à la chloropicrine. Le rendement de la *race Gubbio* a été même sensiblement augmenté.

Les observations faites au cours de la filature sont les suivantes :

1° La cuisson des cocons chloropicrinés est un peu plus longue et, malgré cela, la bave se détache moins bien.

2° La soie grège obtenue est plus rude au toucher (1).

3° Les chrysalides étouffées à la chloropicrine sont de couleur beaucoup plus foncée que celle des chrysalides étouffées par les autres procédés.

(1) Ces observations n'ont pas été confirmées dans la suite.

Race Gubbio.

	LOT 4 CHALEUR SÈCHE		LOT 5 CHALEUR HUMIDE		LOT 6 CHLOROPICRINE	
	Nombre de cocons	Poids en grammes	Nombre de cocons	Poids en grammes	Nombre de cocons	Poids en grammes
Cocons à filer	400	345,5	410	322	390	289
Cocons piqués	16	10,0	10	8	24	18
Lot témoin	23	17,6	22	17	23	17
	439	343,0	442	347	437	324
Soie grège		82,1		88,9		87,8
Frisons		30,5		24		23
Rentrée	3,82		3,59		3,27	

Race or Chine.

	LOT 7 CHALEUR SÈCHE		LOT 8 CHALEUR HUMIDE		LOT 9 CHLOROPICRINE	
	Nombre de cocons	Poids en grammes	Nombre de cocons	Poids en grammes	Nombre de cocons	Poids en grammes
Cocons à filer	610	329	580	316	460	243,5
Cocons piqués	13	5	15	7	10	5
Cocons tachés blancs	»	»	»	»	151	79,5
Lot témoin	21	11	18	10,7	23	12,2
	644	345	613	333,7	644	340,2
Soie grège		100,9		94,4		72,9
Frisons		17		14,7		13
Rentrée	3,24		3,32		3,31	

4° Enfin, l'inconvénient le plus grave est la production, pendant l'opération de filature, de picotements à la gorge provoquant la toux. Les traces de chloropicrine retenues par les cocons attaquent également les doigts de la fileuse.

II. — ESSAIS DE TITRAGE.

Les propriétés de la soie grège obtenue ont été déterminées par un essai de titrage comprenant la détermination du titre et la mesure de la ténacité et de l'élasticité.

Voici les résultats *moyens* obtenus sur dix épreuves de titre et six épreuves de ténacité et d'élasticité pour chaque lot :

	LOTS	TITRE (21)	ÉLASTICITÉ P. 100 jusqu'à rupture	TÉNACITÉ jusqu'à rupture
Ascoli	1	15,7	22,5	67,5
	2	15,3	20,9	67,5
	3	15,9	22,1	68,2
Gubbio.	4	16,4	20,1	62,5
	5	16,4	20,1	69,1
	6	16,1	19,8	61,6
Or Chine	7	19,9	21,0	78,3
	8	20,3	20,1	75,8
	9	19,3	21,6	80,0

(21) Le *titre* est le nombre de demi-décigrammes que pèsent 450 mètres de soie. Il s'élève avec la grosseur du fil.

III. — ESSAIS DE DÉCREUSAGE.

Pertes p. 100 au décreusage.

	ASCOLI	GUBBIO	OR CHINE
Chaleur sèche	25,77	25,71	21,47
Chaleur humide	25,15	26,60	22,00
Chloropicrine.	26,25	26,28	21,42

Tous ces essais confirment les résultats de la filature. En résumé, l'étouffage à la chloropicrine ne semble pas avoir une *grande influence* ni sur le rendement, ni sur les propriétés du fil.

Nous vous retournons ce qui reste des neuf lots de soie grège, après en avoir distrait la quantité nécessaire aux essais de titrage et de décreusage.

Nous conservons au Laboratoire les quelques cocons prélevés comme témoins sur chacun des neuf lots, afin d'examiner plus tard l'influence de l'action lente qui pourrait se produire dans les coconnières, sur la qualité de la soie, surtout en ce qui concerne les cocons étouffés à la chloropicrine.

Veuillez agréer, cher Monsieur, l'expression de mes meilleurs sentiments.

Le Directeur de la Condition des Soies :

Signé : J. TESTENOIRE.

L'observation relative à la production, pendant l'opération de filature, de picotements à la gorge, ainsi qu'aux traces de

chloropicrine retenue par les cocons attaquant les doigts de la fileuse, m'a beaucoup surpris.

J'ai répété l'expérience de distillation des cocons avec l'appareil de Schlöesing et non seulement j'ai vérifié, une fois encore, l'absence de toute trace de chloropicrine ou de composé volatil, chloré ou non, agissant sur les voies respiratoires ou sur les yeux, mais j'ai fait une application des premières gouttes du liquide distillé sur la peau très sensible de la face interne de l'avant-bras sans ressentir la moindre irritation, sans apercevoir la moindre rougeur. Je ne crois donc pas, jusqu'à preuve du contraire, que les symptômes ressentis au moment de la filature aient un rapport matériel avec le traitement antérieur des cocons. D'ailleurs, la réaction la plus sensible de la chloropicrine est le picotement qu'elle provoque aux yeux : d'après mes mesures, cette réaction est déjà appréciable à la dose d'un cinq-centième de milligramme par litre d'air. Or, il n'a été rien signalé du côté des yeux. Inversement, la fileuse aurait eu les doigts attaqués. L'expérience de tous ceux qui ont manié la chloropicrine montre que le contact assez fréquent de la solution aqueuse saturée (à 4 gr. 6 environ par litre) n'a pas d'effet, que l'on peut même se mouiller un instant les mains avec de la chloropicrine pure sans éprouver de brûlure ni de rougeur.

J'ai communiqué ces faits et ces réflexions à M. Testenoire et il a été convenu qu'au cours d'une prochaine campagne, où les expériences ci-dessus seraient reprises, j'assisterais aux essais de filature. Je m'étais abstenu de le faire cette fois par raison d'économie, de temps comme d'argent. On verrait alors s'il était possible de préconiser l'étouffage des cocons par la chloropicrine sans avoir à craindre aucun effet agressif de la substance chimique utilisée.

EXPÉRIENCES DE 1923. — Ces expériences ont été entreprises d'abord pour étudier la portée des résultats déjà obtenus, à la fois quant aux races de vers à soie et quant à la comparaison avec les procédés ordinairement en usage; ensuite, pour rechercher les conditions de doses et de mode opératoire susceptibles de passer dans la pratique. J'ai profité également de cette campagne pour m'assurer, par des expériences effectuées dans des

circonstances extrêmes, du bon état de conservation de la soie traitée par la chloropicrine et, comme il a été expliqué, pour résoudre la question de l'innocuité des cocons au cours des opérations de la filature.

Les étouffages de l'année 1923 ont porté sur la race dite Var moyen, voisine de celle dont je m'étais servi en 1919. Il m'avait été réservé une provision assez importante de ces cocons pour satisfaire, après un triage soigné, aux diverses expériences que j'avais l'intention de réaliser. Comme l'année précédente, des lots d'un kilogramme ont été pesés aussitôt après le triage, de manière à éviter des changements du poids originel qui auraient modifié plus tard les rendements. On sait que les cocons perdent chaque jour du poids à cause des phénomènes respiratoires dont les chrysalides sont le siège.

Les étouffages à la chloropicrine ont été effectués, soit sur 1 kilogramme, soit même sur 2 kilogrammes à la fois, dans la même caisse et suivant la même technique qu'en 1922 pour les cocons de la race Gubbio.

Les étouffages par la chaleur ont été réalisés de deux manières : les uns, par l'action successive de la chaleur humide et de la chaleur sèche, à l'aide d'une grande étuve à circulation modifiable, dans le bel établissement de grainage de M. Quirino Quirci, au Cannet; les autres par la vapeur, dans un appareil domestique, au laboratoire de la Station séricicole de Draguignan.

J'ai observé, en appliquant mon oreille sur le couvercle de la caisse, au cours du traitement par la chloropicrine, que les chrysalides produisent, en s'agitant sous l'influence de la vapeur suffocante, un bruit d'abord très distinct, puis de plus en plus faible, qui permet de se rendre compte de la marche de l'opération et de savoir à quel moment le résultat est atteint.

Cette observation a facilité les nouvelles expériences que j'ai faites pour déterminer un dosage économique de la substance active. Je suis arrivé ainsi à étouffer en une seule fois dans ma caisse 2 kilogrammes de cocons avec 1 c. c. 2 de chloropicrine, agissant une heure à la température de $+19^{\circ}$. La chloropicrine ayant pour densité 1.666 à $+16^{\circ}$ (1), il suffit donc d'un

(1) Pour les caractères de la chloropicrine, voir Gab. BERTRAND. *C. R. Ac. Sc.*, 168, 1919, p. 742.

kilogramme de cette substance pour étouffer à coup sûr une tonne de cocons, en l'espace d'une heure.

Il est généralement admis que les cocons doubles, dont la coque est plus épaisse que celle des cocons ordinaires, sont plus difficiles à étouffer. Si on les manque, par une application insuffisante du moyen de destruction, quand il en reste dans le lot traité, les chrysalides évoluent tant bien que mal, les papillons sortent et souillent du liquide brun, qu'ils évacuent, les cocons du voisinage. C'est une cause de perte qu'il faut éviter. J'ai trouvé, par des expériences particulières, que les conditions de dose et de temps indiquées plus haut, c'est-à-dire d'un gramme de chloropicrine par kilogramme de cocons agissant durant une heure, étaient tout à fait suffisantes pour assurer l'étouffage des cocons doubles. Il en est de même pour les cocons satinés.

Les essais de filature des cocons étouffés par la chloropicrine ont été réalisés, cette année, dans trois laboratoires différents : celui de la Station séricicole de Draguignan, à la Condition publique des Soies de Lyon et, grâce à l'intervention de M. Finel, directeur de la Condition des Soies de Marseille, dans le laboratoire industriel de la Filature de MM. Introïmi et Soragna, près de Marseille. En outre, des essais comparatifs : 1° sur les lots étouffés par l'action successive de la chaleur humide et de la chaleur sèche, et 2° sur des cocons étouffés par la vapeur, ont été effectués dans les deux derniers de ces laboratoires. Dans tous les cas, notamment à Lyon en ma présence, la question controversée du dégagement d'odeur a été examinée avec attention (1). Voici les résultats obtenus, tels qu'ils m'ont été gracieusement communiqués par les directeurs ou propriétaires des laboratoires désignés ci-dessus que je ne saurais trop remercier pour leur bienveillance et leurs encouragements.

(1) Au sujet de cette dernière question, une enquête a été faite auprès des deux ouvrières qui avaient manipulé les cocons l'année précédente : la fileuse a déclaré qu'elle était un peu enrhumée au moment où elle travaillait et qu'elle « avait cru que la gorge la grattait à cause des vapeurs de chloropicrine » ; la seconde ouvrière, qui séparait les chrysalides coulées dans la bassine des restes d'enveloppes, avait un bouton à l'un des doigts et pensait que cela pouvait aussi provenir du traitement particulier que les cocons avaient subi. Cette année, ni l'une, ni l'autre de ces ouvrières n'ont rien éprouvé.

STATION SÉRICICOLE DE DRAGUIGNAN

RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

**Service du contrôle
des grainages
DES VERS A SOIE**

Draguignan, le 7 novembre 1923.

Inspection.

Origine du lot : Var moyen, Duray.

Date du dévidage : 31 octobre 1923 (étouffage à la chloropicrine), 300 grammes
de cocons frais, francs de doubles et de faibles, ont donné :

151 cocons secs pesant 107 grammes.

Soie grège en grammes	31,8
Frisons en grammes	7,8
Bassinés en grammes	2

Rentrée en cocons au kilogramme, 3 kilogr. 364.

Observation : bon dévidage, pas de casse.

Je suis particulièrement heureux de vous faire connaître que le dévidage a été excellent et le rendement très bon, il n'a donné lieu à aucune observation de la part de l'ouvrière fileuse, personne très expérimentée qui ne s'est même pas doutée qu'elle se trouvait en présence de cocons étouffés autrement que par les moyens ordinaires. Je suis donc convaincu que les observations qui ont été faites l'année dernière par le Laboratoire de Lyon ne sont pas fondées, tout au moins pour ce qui est relatif à l'action de la chloropicrine sur les bronches de la fileuse.

Je vous prie...

Le Directeur de la Station séricicole :
O. BRANDI.

CHAMBRE DE COMMERCE
DE MARSEILLE

Marseille, le 13 décembre 1923.

**Etablissement public
de la
CONDITION DES SOIES
Laines et Textiles.**

34, rue Thiers.

*A M. le professeur Gabriel Bertrand,
au Laboratoire de chimie biologique
de l'Institut Pasteur, 28, rue Dulong,
Paris (XV^e).*

Monsieur le Professeur,

Nous avons procédé hier à la filature des essais de cocons que vous avez bien voulu me confier.

La caisse collective et les caissettes de détail ont été ouvertes en ma présence et j'ai accompagné les trois essais jusqu'à leur filature complète.

Les résultats matériels sont :

	QUANTITÉS de soie en kilogr.	QUANTITÉS de frisons en kilogr.	QUANTITÉS de bassinés en kilogr.
Echantillon B (étouffé à la vapeur) . . .	0,082	0,025	0,066
Echantillon D (étouffé à la chloropicrine). .	0,096	0,031	»
Echantillon F (étouffé à sec)	0,107	0,049	»

Il y avait un certain nombre de cocons de l'échantillon B qui commençaient à être percés, soit par suite d'étouffage tardif ou trop lent, m'a-t-on dit, et ils ne se filaient pas. Je les envoie. Les remarques faites au cours de l'opération par les fileuses ou le directeur de la filature sont :

B. Difficiles à filer, beaucoup de bassinés, cocons presque percés; ont demandé près de douze minutes de plus pour être filés; pas d'odeur, chrysalides claires.

D. Est le meilleur au dévidage, peu de bassinés, 12 à 15 environ; pas d'odeur, les chrysalides sont noires, je les envoie; elles ne dégagent aucune odeur.

F. Bon dévidage, un peu plus long que pour D, pas de bassinés, chrysalides à peu près mi-partie noires et moitié claires; la chrysalide paraît avoir un peu l'odeur de la viande de conserve.

En résumé, les cocons ont paru être de premier choix et se sont comportés comme tels, sauf B, les fileuses n'ont rien constaté d'anormal, toujours sauf B. Je vous adresse tous les produits séparés. L'opération a été faite à titre gracieux par MM. Introïmi et Soragna.

Agréez, Monsieur le Professeur,

Signé : FINEL.

CHAMBRE DE COMMERCE DE LYON

Lyon le 7 décembre 1923.

CONDITION PUBLIQUE DES SOIES

Laines et Cotons.

*M. G. Bertrand, Laboratoire de chimie
biologique, 28, rue Dutot, Paris (XV^e).*

Cher Monsieur,

Nous avons terminé l'essai de filature des trois lots de cocons que vous aviez apportés le 23 novembre et dont nous avons filé une moitié devant vous. Les résultats que viennent de nous fournir les secondes moitiés de chacun de vos lots sont sensiblement les mêmes que ceux que vous possédez déjà.

Les voici écrits côte à côte, pour que vous puissiez les comparer :

	RENTRÉE première moitié	RENTRÉE deuxième moitié
Lot F (étouffé à sec)	3,01	3,19
Lot D (étouffé à la chloropicrine) . .	3,24	3,08
Lot B (étouffé à la vapeur).	3,59	3,60

L'infériorité du lot B s'est maintenue et a pour cause le grand nombre de

bassinés (cocons qui se percent dans l'eau de la bassine et sont indévidables).

Nous avons réuni les chiffres correspondant à chacun des trois lots de façon à en déduire le résultat moyen. Ce sont ces chiffres que nous vous communiquons dans le tableau ci-joint.

Nous y avons inscrit les résultats de titrage et de décreusage.

	LOT F ÉTOUFFÉ A SEC		LOT D ÉTOUFFÉ A LA CHLOROPICRINE		LOT B ÉTOUFFÉ A LA VAPEUR	
	Nombre de cocons	Poids en grammes	Nombre de cocons	Poids en grammes	Nombre de cocons	Poids en grammes
Cocons filés	460	355	454	331,3	458	340
Nombre au kilogramme . . .	1.373		1.370		1.347	
Poids moyen d'un cocon. . .		0,72		0,72		0,74
Soie grège		110		105,2		94,5
Frisons		12,7		13,4		11,4
Bassinés	8		6		64	
Rentrée	3,04		3,44		3,59	
Titre.	14,07		13,86		13,13	
Elasticité p. 100	22		21,4		21,8	
Ténacité en grammes	60		58		52	
Perte p. 100 au décreusage. .	21,50		21,87		21,66	

L'examen de ces résultats montre qu'au point de vue rendement et qualité de la soie, le lot D n'est pas inférieur aux deux autres. La marche de la filature donne lieu aux deux observations suivantes qui résument notre avis sur l'influence de la chloropicrine sur l'étouffage des cocons :

1° Les cocons étouffés à la chloropicrine se comportent à la filature comme des cocons vivants. Ils se cuisent avec plus de facilité et plus de rapidité que les deux autres, et ils se dévident mieux;

2° L'influence de la chloropicrine sur la fileuse reste à démontrer. Nous croyons qu'on ne pourra être définitivement fixé que par un essai industriel en grand.

Veuillez agréer,

Le Directeur de la Condition des Soies :
J. TESTENOIRE.

Et résumant ses impressions sur les résultats obtenus à la suite des expériences de 1922 et de 1923, le Directeur de la Condition ajoute :

« De l'examen du tableau de leur rendement respectif, il

résulte que le rendement du lot *chloropictiné D* est nettement supérieur à celui du lot B étouffé à la vapeur, très peu différent de celui du lot F. Dans les expériences de 1922, les rendements avaient été tantôt supérieurs, tantôt inférieurs à ceux des lots étouffés à la vapeur ou à l'air chaud, et on avait pu conclure : « *L'étouffage à la chloropictine ne semble pas avoir d'influence sur les rendements des cocons.* »

« Cette conclusion reste entière; les autres considérations n'étant pas appuyées par des chiffres peuvent varier suivant l'appréciation des expérimentateurs; seules les expériences industrielles pourront trancher ces différentes questions. »

Un dernier point a été envisagé : l'influence possible du temps de conservation sur les qualités de la soie provenant de cocons étouffés par la chloropictine. Déjà il résulte des mesures consignées dans les rapports précédemment reproduits que la soie tirée des cocons cinq à six mois après l'étouffage ne se comporte pas autrement sous le rapport de la résistance et de l'élasticité, non plus que sous celui du décreusage, soit que les cocons aient été étouffés par la chloropictine, soit qu'ils l'aient été par l'un des moyens habituellement employés dans l'industrie. Mais j'ai tenu, pour plus de certitude, à savoir ce qu'il adviendrait d'une soie conservée plus longtemps encore. J'ai prié M. Testenoire de bien vouloir faire examiner à nouveau les soies qui provenaient des cocons filés l'année précédente. Les résultats obtenus sont consignés dans le rapport ci-dessous :

CONDITION PUBLIQUE DES SOIES

Lyon, le 21 décembre 1923.

Laboratoire

D'ÉTUDES DE LA SOIE

7, rue Saint-Polycarpe, LYON.

M. G. Bertrand, professeur à la Faculté des Sciences, Laboratoire de chimie biologique, Institut Pasteur, 28, rue Dutot, Paris (XV^e).

Chambre de Commerce de Lyon.

Cher Monsieur,

Nous vous adressons les résultats des expériences dynamométriques faites sur chacun des échantillons de soie de l'an dernier.

Comme vous le verrez, nous les avons effectuées à deux reprises : la pre-

mière fois le 17 décembre sur 20 longueurs réglementaires de 50 centimètres pour chaque épreuve. Les résultats moyens de ténacité et d'élasticité que nous avons ainsi obtenus, comparés à ceux que nous avons trouvés en décembre 1922, nous ayant fait constater des différences notables, nous avons procédé à une nouvelle série d'épreuves, en limitant leur nombre à 6 comme en 1922.

Ténacité.

PROCÉDÉ d'étouffage	ESSAIS DE 1922 Sur 6 épreuves 28 décembre	ESSAIS DE 1923	
		Sur 20 épreuves 17 décembre	Sur 6 épreuves 20 décembre
1. Chaleur sèche.	67,5	61,2	73,8
2. Vapeur	67,5	62,7	64,1
3. Chloropirine	68,2	65,0	65,0
4. Chaleur sèche.	62,5	59,0	61,6
5. Vapeur	69,1	60,7	65,0
6. Chloropirine	61,6	62,0	67,5
7. Chaleur sèche.	78,3	72,5	65,0
8. Vapeur	75,8	69,7	77,5
9. Chloropirine	80,0	72,7	56,6

Les résultats fournis montrent que la valeur de ces opérations est variable et qu'elle est fonction du plus ou moins de régularité du fil, et cela aussi bien pour les cocons étouffés à la vapeur que pour ceux tirés de cocons étouffés à la chloropirine.

Les nouveaux résultats de décreusage consignés dans le tableau ci-joint concordent mieux avec les résultats de l'année dernière.

PROCÉDÉ d'étouffage	PERTE AU DÉCREUSAGE	
	1922	1923
1. Chaleur sèche.	25,77	25,70
2. Vapeur	25,15	25,23
3. Chloropirine	26,25	26,16
4. Chaleur sèche.	25,71	25,96
5. Vapeur	26,60	26,49
6. Chloropirine	26,28	26,54
7. Chaleur sèche.	21,47	21,75
8. Vapeur	22,00	21,44
9. Chloropirine	21,42	21,52

En résumé, on peut conclure qu'il n'y a pas eu d'altération de la fibre d'une année à l'autre.

Veuillez agréer...

Signé : J. TESTENOIRE.

Ainsi le traitement des cocons par la chloropirine n'a pas

d'action éloignée sur la soie : les propriétés physiques et les rendements au décreusage sont restés les mêmes, un an et demi après l'étouffage, pour la soie grège provenant des cocons à la chloropicrine et pour celle des cocons chauffés à sec ou à la vapeur.

Résumé et conclusions.

Les chrysalides de vers à soie sont extrêmement sensibles à l'action de la vapeur de chloropicrine. Cette sensibilité augmente légèrement, semble-t-il, avec leur degré d'évolution.

Les coques dans lesquelles les chrysalides sont naturellement enfermées ne les protègent pas d'une manière notable contre l'action de la vapeur.

Il est donc possible d'obtenir un étouffage complet et rapide des cocons en faisant usage de la chloropicrine. La dose de 1 gramme de substance par kilogramme de cocons agissant pendant une heure à la température voisine de $+20^{\circ}$ suffit pour atteindre largement le résultat, même lorsqu'il reste dans le lot à étouffer des cocons doubles et des cocons satinés.

Les cocons exposés à l'air sur des claies après le traitement perdent presque aussitôt toute odeur de chloropicrine. Ils se dessèchent ensuite très facilement.

L'étouffage à la chloropicrine est sans action sur l'enveloppe soyeuse. Après le traitement, les cocons ont la même couleur et les mêmes qualités que les cocons frais. Ils se filent, notamment, avec la même facilité.

Le rendement en soie grège des cocons étouffés par la chloropicrine est égal, et parfois même supérieur, à celui des cocons étouffés par les procédés industriels (chaleur sèche et chaleur humide).

Les propriétés physiques (ténacité, élasticité) et les rendements au décreusage sont, aux erreurs près d'expériences, les mêmes pour la soie grège extraite des cocons étouffés par la chloropicrine et pour la soie grège obtenue à l'aide des procédés ordinaires.

Il est donc permis d'envisager sérieusement l'étouffage des cocons par la chloropicrine, aussi bien par les éducateurs que par les industriels.

Les premiers, en opérant dans une caisse de forme et de grandeur appropriées, dans une boîte, une malle ou un tonneau, puis en desséchant les cocons traités sur les claies d'éducation, pourront se libérer de leur servitude vis-à-vis de certains intermédiaires qui, sans courir les mêmes risques et avec beaucoup moins de travail, réalisent parfois les plus gros bénéfices.

Les industriels trouveront sans doute aussi à gagner. Aux prix actuels de la chloropicrine et des combustibles, la dépense d'étouffage par le nouveau procédé est déjà inférieure à celle des procédés en usage. Et l'on pourrait probablement encore, surtout dans les opérations en grand, diminuer la proportion de la substance active. D'autre part, la surveillance de l'opération est beaucoup plus facile, le procédé à la chloropicrine comportant une très grande marge de sécurité et ne risquant pas d'altérer la soie, comme cela arrive trop souvent dans les procédés qui reposent sur l'action de la chaleur.

On peut espérer, enfin, que le nouveau procédé d'étouffage influencera utilement l'expansion de la sériciculture. Dans les conditions économiques où nous nous trouvons, l'élevage des vers à soie est une opération lucrative pour ceux qui la pratiquent et avantageuse, en même temps, pour le pays. Il existe en bien des régions de la France, et même aux environs de Paris, des restes de plantations de mûriers qui pourraient servir d'amorces à de petites éducations, celles qui sont le plus facile à conduire et qui donnent, à partir d'un certain poids de graines ou œufs de vers à soie, les meilleurs rendements. Mais l'éloignement de ces régions des grands centres séricicoles est un obstacle à la vente des cocons frais (qui, on se le rappelle, éclosent peu de jours après leur récolte). On ne peut songer, raisonnablement, à créer des éducations particulières en de telles régions que si on dispose d'un procédé d'étouffage commode et sûr, n'ayant aucune action nocive sur la soie, n'exigeant, enfin, aucune installation compliquée ou coûteuse. Ce sont justement là des qualités attribuables au procédé d'étouffage que je fais connaître aujourd'hui.

PANSEMENTS SPÉCIFIQUES

ÉTUDE SUR L'IMMUNITÉ LOCALE

par A. BESREDKA.

Peu de microbes sont aussi dissemblables que la bactériidie charbonneuse, d'une part, les staphylocoques et les streptocoques, d'autre part. Leurs propriétés biologiques les séparent aussi profondément que leur morphologie. Un caractère leur est commun, encore est-il négatif : la déficience de fonctions antigènes. Les staphylocoques et les streptocoques sont des germes à vaccination difficile, en quoi ils rappellent la bactériidie d'avant la cuti-vaccination. Si ce dernier microbe trouvait l'excuse dans sa grande virulence, les cocci en question ne sauraient même invoquer cette circonstance, car ils sont généralement inoffensifs pour les animaux de laboratoire. Il est néanmoins à peu près aussi difficile de vacciner aujourd'hui le cobaye contre le staphylocoque, et surtout contre le streptocoque, qu'il l'a été encore naguère contre le bacille du charbon.

On ne compte plus les tentatives pour préparer des sérums antistaphylococciques et antistreptococciques, ni les essais de mettre en évidence, dans le sang de l'homme et des animaux infectés ou guéris, des anticorps bactéricides ou autres.

De toutes ces recherches, impossibles à résumer parce qu'aussi variées que contradictoires, une seule conclusion se dégage : les staphylocoques et les streptocoques occupent une place à part, aussi bien par la résistance qu'ils opposent aux tentatives de vaccination que par leur incapacité d'engendrer des anticorps. Les procédés courants d'immunisation, consistant en injections sous la peau, dans le péritoine ou dans les veines, sont peu efficaces chez les animaux, notamment lorsqu'il s'agit des streptocoques. Pour expliquer ce phénomène, on déclare que les cobayes ne fabriquent pas d'anticorps. Mais l'homme n'en fabrique pas davantage ; pourtant, il bénéficie, dans bien des cas, du traitement par le vaccin antistaphylococcique. Le secret de l'échec n'est donc pas dans les anticorps.

Les bons effets de la vaccinothérapie chez l'homme prouvent

— ce qui est déjà fort important — que l'immunité antistaphylococcique est possible. Quant au mécanisme de cette action, ayons le courage de l'avouer, il nous échappe pour l'instant.

Édifié par l'histoire du charbon, nous nous sommes demandé si les difficultés que l'on rencontre dans la vaccination contre le Staphylocoque et le Streptocoque ne sont pas du même ordre que celles qui existaient pour la bactériémie charbonneuse. N'y aurait-il pas là aussi une question des voies de pénétration et des cellules réceptives?

Sans posséder l'affinité exclusive de la bactériémie pour la peau, le staphylocoque manifeste, à n'en pas douter, une prédilection pour l'appareil cutané. Si les bienfaits de la vaccinothérapie reposent sur l'immunité locale de la peau, ne serait-il pas plus rationnel de s'en tenir à la vaccination de la peau, au lieu de rechercher la production d'anticorps, comme le commande la doctrine de Wright? Au lieu de se livrer à des injections sous-cutanées ou intraveineuses, comme l'exige la pratique courante, ne serait-il donc pas plus indiqué d'intéresser seul l'organe réceptif?

On peut admettre que l'homme, en raison de sa grande sensibilité à l'infection streptococcique ou staphylococcique, se laisse plus facilement vacciner que les animaux de laboratoire : la petite dose de vaccin exerçant son action salutaire au niveau de la peau; chez l'homme, peut ne pas suffire pour agir de même chez l'animal. S'il en était réellement ainsi, ne saurait-on obtenir une immunité solide chez les animaux de laboratoire, en s'adressant à leur appareil cutané?

La plupart des staphylocoques et des streptocoques que l'on isole chez l'homme sont peu pathogènes pour les animaux; ils ne se prêtent donc pas aux expériences de vaccination. Notre ami et collaborateur Urbain ayant mis à notre disposition des souches virulentes de ces microbes, nous pûmes entreprendre toute une série de recherches sur des cobayes; nous allons les résumer dans les pages qui suivent.

I. — VACCINATION ANTISTAPHYLOCOCCIQUE.

Le staphylocoque dont nous nous sommes servi crée chez le cobaye, injecté sous la peau du ventre, à la dose de 1 cent. cube

de culture de vingt-quatre heures en bouillon, une lésion cutanée caractéristique. Après une période silencieuse, durant vingt-quatre à quarante-huit heures, on voit apparaître, au niveau de l'inoculation, de l'œdème qui s'étend de jour en jour et finit par envahir une grande étendue de l'abdomen. Le tissu œdématisé durcit et fait place à un placard de tissu ligneux. En même temps, la peau de la zone affectée, rouge d'abord, devient rapidement noirâtre et légèrement suintante. On assiste ensuite à la formation d'une large escarre qui, en se détachant, met à nu du tissu saignant, long à guérir. Dans le cas où la dose de staphylocoques injectée sous la peau est forte (1,5-2 cent. cubes), le cobaye meurt de septicémie en trois à dix jours (1).

Le tableau est tout différent chez les cobayes qui avaient été préparés en vue de la vaccination. Cette préparation est faite, la veille ou l'avant-veille, au moyen de cultures chauffées (60°-lh.) de staphylocoques ou de cultures filtrées sur bougie.

Les unes et les autres sont injectées, suivant le cas, sous la peau ou dans l'épaisseur de la peau, ou bien elles sont appliquées, sous forme de pansement, sur la peau du ventre, préalablement rasée ou épilée.

L'inoculation d'épreuve, faite avec des staphylocoques vivants, est pratiquée sous la peau vingt-quatre à quarante-huit heures, quelquefois soixante-douze heures, après la préparation.

En comparant les lésions chez les cobayes diversement préparés au moyen des cultures chauffées, on ne manque pas de constater qu'elles sont notablement plus discrètes chez les cobayes vaccinés dans la peau que chez ceux qui avaient reçu du vaccin sous la peau (2). La différence est surtout marquée en faveur des cobayes qui avaient été enveloppés, en guise de vaccination, de compresses imbibées de cultures chauffées de staphylocoques. Chez ces derniers, au lieu d'une escarre, on constate une lésion superficielle ou, plus souvent encore, un abcès circonscrit qui ne tarde pas à se vider et à guérir. L'immunité des animaux préalablement préparés est manifeste.

Si l'on prend en considération que cette immunité s'établit

(1) *C. R. Soc. Biol.*, 88, 19 mai 1923, p. 4273.

(2) Les mêmes faits ont été observés récemment par M. Frans de Potter. *C. R. Soc. Biol.*, 89, 13 octobre 1923, p. 828.

à la suite d'un simple pansement et qu'elle apparaît déjà dans les vingt-quatre heures qui suivent son application, la participation des anticorps paraît devoir être exclue. Ajoutons que la recherche des anticorps dans le sérum des animaux ainsi vaccinés ne donne jamais de résultats positifs.

L'analogie entre l'immunité antistaphylococcique et celle décrite au sujet du charbon s'impose : dans les deux cas, c'est la cuti-vaccination qui confère le maximum d'immunité ; dans les deux cas, cette immunité a pour siège principal, sinon unique, la peau ; dans un cas comme dans l'autre, l'immunité est acquise indépendamment des anticorps, c'est-à-dire elle est locale.

*
* *

Nous venons de voir que les compresses imbibées de cultures de staphylocoques agissent à la manière d'excellents vaccins. Nous rappelant que *corpora non agunt nisi soluta*, il était naturel de penser que ce ne sont pas les corps de microbes eux-mêmes, contenus dans les pansements, qui interviennent, mais plutôt les produits solubles qui en dérivent.

Nous dirigeâmes donc nos recherches dans ce sens et les expériences ne tardèrent pas à nous donner raison (1).

Quand on filtre sur bougie une culture de staphylocoques en bouillon, âgée de huit à dix jours, on obtient un liquide qui, au premier abord, ne diffère pas sensiblement du bouillon ordinaire : injecté à l'animal, ce liquide, quoique issu d'une culture virulente, est dénué de toute toxicité ;ensemencé avec des microbes variés, ce liquide donne des cultures pouvant presque rivaliser, quant à leur richesse, avec du bouillon normal.

Seuls, les staphylocoques — quelle qu'en soit l'origine — réensemencés dans ce liquide n'y poussent pas ou poussent à peine ; ils conservent leur vitalité, mais sont incapables d'y faire souche. L'action inhibitrice du liquide se manifeste, jusqu'à un certain degré, aussi *in vivo*. Ainsi, lorsqu'on injecte au cobaye, sous la peau, simultanément ce liquide (2 cent. cubes) et des staphylocoques vivants (1 cent. cube de culture de vingt-quatre heures en bouillon), on observe beaucoup moins de ravages que

(1) *C. R. Soc. Biol.*, **89**, 2 juin 1923, p. 7.

lorsque le microbe est injecté seul ou avec du bouillon ordinaire. La culture filtrée renferme donc une substance qui paralyse l'activité des staphylocoques, aussi bien *in vivo* que *in vitro*. Quelle est cette substance?

Il résulte de nos expériences qu'il s'agit d'un corps thermostable et spécifique. On peut le porter à 100° pendant trente minutes ou bien à 120° pendant vingt minutes, sans lui faire perdre ses propriétés. L'action inhibitrice sur les staphylocoques ne prend pas place lorsqu'on fait agir sur ceux-ci la culture filtrée d'un microbe étranger, celle de bacilles typhiques, par exemple. De plus, la substance en question possède, comme nous allons le voir, une affinité élective pour la peau, tout comme le staphylocoque dont elle dérive. Enfin, comme l'indique son mode d'obtention, cette substance a le pouvoir de diffuser dans le milieu ambiant.

Il semble donc qu'il existe à l'intérieur du staphylocoque, à côté d'un virus thermolabile adhérent au corps du microbe, responsable des lésions cutanées graves et, occasionnellement, de la mort, une autre substance, atoxique, thermostable, se détachant facilement du corps du microbe, agissant à la façon d'antagoniste, « un antiviral ». Issus du Staphylocoque, virus et antiviral sont strictement spécifiques; tous les deux possèdent une affinité élective pour l'appareil cutané.

Nous avons déjà fait ressortir l'efficacité des pansements faits avec des cultures entières, chauffées, de staphylocoques. L'idée venait donc à l'esprit que le pouvoir vaccinant de ces pansements devait être lié à la présence dans la compresse de l'antiviral dont il vient d'être question.

Cette idée fut confirmée par l'expérience. En effet, dès que l'on remplaça les cultures entières par des cultures filtrées, non seulement les résultats furent les mêmes, mais ils devinrent encore plus tranchés: la différence de l'effet vaccinant, suivant la voie de pénétration de l'antiviral, ressortit avec une plus grande netteté encore.

*
* *

Il résulte de nos expériences que suivant que l'on fait agir l'antiviral par la voie cutanée ou péritonéale, l'immunité s'établit ou ne s'établit pas.

Injectée dans la cavité péritonéale à titre préventif, la culture filtrée de staphylocoques est pratiquement sans action aucune. Est-ce parce que la substance spécifique n'arrive pas jusqu'aux cellules réceptives de la peau? Nous l'ignorons. Toujours est-il qu'en pareil cas l'antivirus est hors d'état de protéger le cobaye contre le virus; il est incapable d'empêcher l'escarre de se former.

Injectée sous la peau, la culture filtrée exerce un certain pouvoir vaccinant; elle agit cependant beaucoup moins bien que lorsque l'injection est faite directement dans la peau. Dans ce dernier cas, le cobaye ne connaît pas d'escarre cutanée; la lésion se réduit, tout au plus, à une érosion superficielle de la peau.

L'effet de la vaccination intracutanée est particulièrement accusé, lorsqu'on multiplie les points d'injections, lorsqu'on procède à ce que nous appelâmes « la cuti-vaccination en nappe », qui a pour effet de faire participer à la vaccination une large surface de la peau.

C'est lorsque cette surface est intéressée au processus de la vaccination dans toute son étendue, que l'on obtient le maximum d'immunité; ce qui se trouve réalisé lors de l'application sur la peau rasée d'une compresse imbibée de liquide vaccinant. L'animal ainsi pansé, ne fût-ce que de la veille, résiste dans la suite à la dose mortelle de staphylocoques. Au niveau de la zone inoculée, la peau reste indemne ou bien présente une lésion localisée à l'épiderme. Alors que le témoin montre une grosse induration chaude, envahissant le derme, aboutissant à l'escarre, la peau du cobaye pansé à l'antivirus ne présente ni chaleur, ni rougeur : tout se borne à une collection sous-épidermique de pus; le petit abcès ne tarde pas à se vider et la peau reprend vite son aspect normal.

Résumons-nous : Le principe vaccinant, contenu à l'intérieur des staphylocoques, peut en être isolé et obtenu à l'état dissous dans les cultures en milieux liquides. Ce principe est atoxique, thermostable et spécifique. Il n'agit qu'administré dans ou sur la peau. Le peu d'efficacité des injections sous-cutanées et surtout intrapéritonéales, d'une part, l'apparition de l'immunité dès le lendemain des injections dans la peau ou des applications sur la peau, d'autre part, excluent la partici-

pation des anticorps du sang et militent en faveur de celle des cellules réceptives de la peau ou de la cuti-vaccination.

*
* *

Rappelons les expériences toutes récentes de Urbain (1) ayant abouti, chez les lapins, à des résultats comparables à ceux observés chez les cobayes.

Cet auteur a voulu se rendre compte jusqu'à quel point on pouvait protéger les lapins contre l'infection staphylococcique mortelle, si l'on fait précéder celle-ci d'un pansement spécifique. Il a vu que, dans la moitié des cas, les animaux sont préservés d'une façon définitive et que, dans l'autre moitié, on leur confère une survie appréciable sur les témoins. Notons que l'épreuve à laquelle furent soumis les lapins dans ces expériences a été assez sévère : l'inoculation a été pratiquée directement dans le sang, avec une dose (1 cent. cube de culture de vingt-quatre heures en bouillon) qui tuait les témoins en six jours. L'autopsie de ces derniers révélait des staphylocoques dans le sang et à l'intérieur des abcès multiples disséminés dans les reins.

L'immunité conférée par l'antivirus aux lapins était manifeste déjà vingt-quatre heures après l'application des pansements.

L'action de ces derniers a été spécifique, l'antivirus streptococcique étant incapable de communiquer l'immunité à l'égard de l'infection produite par le staphylocoque.

II. — VACCINATION ANTISTREPTOCOCCIQUE.

Les streptocoques voisinent souvent avec les staphylocoques, bien qu'offrant, à beaucoup d'égards, des caractères fort différents. Où ils se ressemblent surtout, c'est lorsqu'il s'agit de la vaccination. Nous savons combien peu sont prononcées les fonctions antigènes des staphylocoques. Nul n'ignore qu'ils sont loin d'être des vaccins parfaits. On arrive cependant à vacciner — péniblement il est vrai — les animaux de laboratoire au moyen des corps de microbes; on est un peu plus heureux, en vaccinothérapie, chez l'homme.

(1) *C. R. Soc. Biol.*, 91, 5 juillet 1924.

Mais, dès qu'il s'agit de vacciner contre les streptocoques, les difficultés deviennent à peu près insurmontables. Tout fut essayé. Les uns chauffèrent les streptocoques à 63°, d'autres mirent leur espoir dans les cultures portées à 60°; les uns firent agir la galactose et l'urée, d'autres les soumirent à l'action du trichlorure d'iode; les uns se servirent de cultures jeunes, d'autres essayèrent des cultures âgées. Tout fut en vain. Du moment que les streptocoques ne sont pas vivants, qu'ils aient été tués par le feu ou par les produits chimiques, ils refusent de vacciner les animaux de laboratoire.

Notons que, vivants, les streptocoques peuvent vacciner. Encore faut-il que l'on en injecte des quantités voisines de la dose mortelle; c'est un mode de vaccination qui, à la rigueur, peut s'employer dans le laboratoire, mais qui a peu de chances de se généraliser dans la pratique humaine.

Des tentatives de vaccinothérapie chez l'homme, au moyen des cultures mortes de streptocoques, demeurent cependant fréquentes : on y a recours faute de mieux. On y est surtout incité par des effets, souvent heureux, obtenus dans les infections à staphylocoques; mais, dans les streptococcies, les résultats pratiques sont généralement nuls.

En s'inspirant de nos expériences de cuti-vaccination anti-staphylococcique chez le cobaye, Brocq-Rousseu, Forgeot et Urbain (1) essayèrent d'appliquer le même principe aux streptocoques. Les résultats obtenus par ces auteurs ont été encourageants. Alors que les injections de streptocoques tués (60°-45') sous la peau ne provoquaient aucune immunité, celles pratiquées dans la peau ont permis de sauver trois cobayes sur cinq. Lorsque les injections intracutanées, au lieu d'être faites en un seul point, furent réparties sur une grande étendue, selon le principe de la cuti-vaccination en nappe, les auteurs parvinrent à préserver de la mort sept cobayes sur huit.

En d'autres termes, pour peu que l'on substitue au procédé courant de vaccination la cuti-vaccination en nappe, on réussit à utiliser même des streptocoques tués et à en faire un vaccin convenable.

(1) *C. R. Soc. Biologie*, 89, 23 juin 1923, p. 249.

*
* *

Dès que les pansements antistaphylococciques donnèrent les résultats que l'on sait, nous nous sommes mis, en collaboration avec Urbain, à étudier l'antivirus streptococcique et les pansements préparés avec ce dernier (1).

Nous ne tardâmes pas à constater que le streptocoque cultivé en milieu liquide, bouillon-sérum ou simple bouillon, laisse également diffuser une substance spécifique ayant tous les caractères propres à l'antivirus staphylococcique.

La souche dont nous nous sommes servi au cours de toutes ces expériences était virulente pour le cobaye; à la dose de 1 cent. cube, elle provoque, en injection sous-cutanée, une lésion cutanée caractéristique; à la dose de 2 cent. cubes, elle tue, sous la peau, le cobaye de 400 grammes en moins de vingt-quatre heures.

Pour préparer les pansements, nous procédons comme pour le staphylocoque. La culture en milieu liquide, laissée à 37° pendant huit à dix jours, est filtrée; le filtrat est de nouveauensemencé, porté à l'étuve et refiltré après un nouveau délai de huit à dix jours. Dans le liquide ainsi obtenu, le streptocoque ne se développe plus.

Voici, pour fixer les idées, quelques expériences faites avec ce filtrat.

I. Trois cobayes sont pansés au filtrat de streptocoques en bouillon-sérum.

Deux cobayes, devant servir de témoins, sont pansés au bouillon-sérum seul. Après un contact de vingt-quatre heures, on retire les pansements.

On attend deux jours, après quoi on procède à l'inoculation d'épreuve.

Pour cette dernière, aux cinq cobayes ayant été pansés, on ajoute encore trois cobayes neufs : à tous, on inocule sous la peau 2 c. c. 5 de culture jeune de streptocoques vivants, en bouillon-sérum.

Le lendemain : les trois cobayes témoins et les deux cobayes pansés au bouillon-sérum sont trouvés morts; seuls survivent les trois cobayes pansés à la culture filtrée.

II. Dans une autre expérience, au lieu d'attendre trois jours, il fut procédé à l'inoculation d'épreuve, vingt-quatre heures après l'application du pansement.

(1) *C. R. Soc. Biologie*, 89, 21 juillet 1923, p. 506.

Trois cobayes sont pansés à l'antivirus.

Deux cobayes sont pansés au bouillon-sérum seul.

Deux cobayes neufs servent de témoins.

Le lendemain, on enlève les pansements et on inocule à tous les cobayes le streptocoque virulent, dans les mêmes conditions que dans l'expérience précédente.

Seuls survivent les cobayes ayant été pansés avec de la culture filtrée.

III. Trois cobayes reçoivent sous la peau un mélange de 2 cent. cubes d'antivirus streptococcique + 2 c. c. 5 de culture de streptocoques vivants, âgés de dix-huit heures.

Deux cobayes témoins reçoivent sous la peau un mélange de 2 cent. cubes de bouillon-sérum + 2 c. c. 5 de culture de mêmes streptocoques.

Le lendemain, on trouve les deux cobayes témoins morts d'infection streptococcique; quant aux trois cobayes ayant reçu le mélange de filtrat et de culture, un est mort au bout de soixante heures, un autre au bout de quatre jours, le troisième a eu une survie définitive.

IV. Deux cobayes reçoivent dans le péritoine 0 c. c. 5 de culture de streptocoques de dix-huit heures, ce qui est une dose minima, mais sûrement mortelle.

Un cobaye reçoit dans le péritoine un mélange de 0 c. c. 5 de culture de streptocoques + 2 cent. cubes de bouillon-sérum pur.

Deux cobayes reçoivent dans le péritoine un mélange de 0 c. c. 5 de culture de streptocoques + 2 cent. cubes d'antivirus streptococcique.

Trois cobayes, préparés de la veille avec 2 cent. cubes d'antivirus streptococcique dans le péritoine, reçoivent sous la peau, en même temps que les autres, 2 c. c. 5 de culture de streptocoques. Aucun de ces cobayes ne survécut.

De l'ensemble de ces expériences, il ressort que la substance spécifique, élaborée dans les cultures âgées, dans les conditions indiquées, possède une affinité élective pour l'appareil cutané : d'un effet nul en injection intrapéritonéale, cette substance manifeste une action indéniable lorsqu'elle est injectée sous la peau. Mais, où l'antivirus déploie le maximum d'effet, c'est lorsqu'il est appliqué directement sur la peau, en pansement. Dans ce cas, il vaccine l'animal contre la lésion cutanée que provoque le streptocoque vivant sous la peau; à la place de l'escarre entourée d'une large zone inflammatoire, on assiste à la formation d'un petit abcès au milieu d'un tissu sain. Au cas où le streptocoque est inoculé à la dose mortelle, l'animal a la vie sauve, pour peu que le pansement ait été appliqué au moins vingt-quatre heures auparavant.

Tous ces faits concernant la vaccination antistreptococcique, au moyen de cultures entières ou au moyen d'antivirus, sont

donc superposables à ceux décrits au sujet du staphylocoque et de son antivirüs.

On ne saurait méconnaître l'existence d'une certaine analogie entre les cocci en question et la bactériémie, analogie qui va devenir plus étroite le jour où l'on aura entre les mains l'antivirüs charbonneux.

Les staphylocoques et les streptocoques n'offrent pas, certes, cette attraction vers la peau, qui caractérise la bactériémie. Il n'en est pas moins vrai qu'ils possèdent, bien que capables de se localiser ailleurs, une affinité élective pour l'appareil cutané. Chaque fois que ces cocci s'implantent en un point quelconque de la peau ou d'un autre organe, ils commencent par créer une lésion strictement locale. Cette dernière constitue à elle seule, pendant une certaine période de l'infection, toute la maladie. Tant qu'une staphylococcie ou une streptococcie reste ainsi localisée, n'est-elle pas justiciable des procédés basés sur le principe de l'immunité locale? En d'autres termes, la vaccination, tant préventive que curative, des organes ou des tissus (peau, muqueuse, os, plèvre, péricarde, œil, etc.) ne doit-elle pas s'effectuer sur place, sans que l'on recherche le concours d'anticorps?

III. — VACCINOTHÉRAPIE.

Dans les deux chapitres qui précèdent, il a été montré que les échecs des vaccinations préventives étaient plutôt dus à la façon de procéder des expérimentateurs qu'à la nature des vaccins employés.

Renoncer à l'idée de produire des anticorps, mais s'attaquer directement aux organes réceptifs, tel est l'enseignement qui se dégage de l'ensemble de ces expériences. En appliquant les pansements spécifiques sur le groupe des cellules à vacciner, qu'il s'agisse de celles de la peau, de l'intestin, de la plèvre, de l'utérus, du poumon ou de l'œil, on réunit, comme le prouve l'expérience, le maximum de conditions pour réaliser l'immunité.

N'étant pas en mesure de réaliser chez l'animal une staphylococcie ou une streptococcie à longue évolution, justiciable de la vaccinothérapie, nous nous voyons obligés de nous en rapporter à des faits d'ordre clinique. On possède à l'heure actuelle

un assez grand nombre d'observations dont nous allons résumer quelques-unes.

Otite externe et rhinopharyngite à streptocoque (auto-observation du médecin principal N.). — Début le 15 avril par une sensation de gêne et de cuisson dans le nez. La muqueuse est rouge et très sensible. Des mucosités se rassemblent pendant la nuit dans le pharynx nasal et sont expulsées par la bouche le matin au réveil.

Le mardi 22 avril, à 2 h. 15 du matin, le malade est réveillé par une douleur très vive à l'oreille droite. La douleur est difficilement calmée par de hautes doses d'aspirine et de pyramidon.

Le conduit auditif est très œdématié et rouge, ne permettant pas l'examen du tympan. La surdité est complète du côté droit; température axillaire, le 22 au soir, 38°5 (température habituelle du malade 36°2 à 36°8).

Le 23 et le 24, état stationnaire. Douleurs toujours très vives s'étendant à la face et au crâne du côté droit, rendant l'examen du conduit auditif très pénible.

Le 24, injection de 1/2 cent. cube de lipovaccin antipyogène. Un coup de bistouri dans la paroi du conduit ne donne que quelques gouttes de sang, pas de pus.

Le 26, la douleur reste intolérable. Les mucosités naso-pharyngées ont pris un aspect nettement purulent et sont striées de sang. L'ensemencement de ces mucosités donne une culture presque pure de *streptocoque*.

Après une deuxième injection de lipovaccin, la douleur persiste, mais la température maxima tombe à 37°2.

Le 28 avril, instillation dans le conduit auditif et dans le nez de bouillon-vaccin antistreptococcique de Besredka. Dix minutes après, la douleur change de caractère et se transforme en démangeaison. *Une demi-heure après, toute douleur a complètement disparu*, et l'examen de l'oreille, habituellement très pénible, devient tout à fait indolore.

A cette amélioration subjective correspond une transformation très nette de la lésion; la diminution du gonflement de la paroi permet d'apercevoir le tympan qui est intact.

L'amélioration progresse régulièrement les jours suivants sous l'influence du traitement par les bains locaux au bouillon-vaccin, continué en même temps que sont pratiquées deux nouvelles injections de lipovaccin antipyogène. Température 36°2 à 36°5.

Le 4 mai, la guérison du naso-pharynx et de l'oreille est définitive.

Abcès ostéomyélitique de la cuisse gauche (par M^{lle} Bass, MM. Soupault et Brouet, Clinique chirurgicale du professeur Hartmann, à l'Hôtel-Dieu). — Leg... (Albert), vingt-sept ans. Blessé par balle en 1915 à la cuisse gauche. Récemment, quelques douleurs dans ce membre avec gêne à la marche, et bientôt tuméfaction obligeant le malade à s'aliter, s'accompagnant de fièvre entre 38° et 39° et d'un mauvais état général.

Le 3 mars, au niveau d'une ancienne cicatrice, apparition de deux abcès; quelques ganglions inguinaux. Le fémur a augmenté de volume, en forme de fuseau. La température atteint 40°.

Le 14 mars, ponction au bistouri et drainage.

Le 17 mars, prélèvement de pus pour analyse et préparation du bouillon-vaccin. Présence de *staphylocoques*.

Le 27 mars, premier pansement à l'auto-vaccin antistaphylococcique. Le malade quitte l'hôpital le 31 mars. Il revient pendant quelques jours aux pansements. La cicatrisation de la plaie est rapide.

Infection puerpérale (Lévy-Solal, Simard et Leloup, *C. R. Soc. Biol.*, 23 février 1924, p. 483. Observation résumée). — Primipare. Rupture prématurée des membranes dans la nuit du 11-12 janvier. Dilatation complète le 14 janvier.

Accouchement au forceps. Délivrance artificielle.

Le 15 janvier, 6 heures du soir : température, 38°; pouls, 122. Facies très tiré, teint terreux, langue sèche.

Le 16 janvier, au matin : température, 38°; pouls, 136; teinte subictérique marquée; le soir : température, 39°4; pouls, 144; petit, filant, intermittent; état dyspnéique grave. Premier tamponnement intra-utérin au bouillon-vaccin antistreptococcique.

Le 17 janvier, au matin : température, 39°2; pouls, 140, intermittent; dans la journée, crise sudorale intense; au soir : température, 38°; pouls, 140; on pratique un deuxième tamponnement au bouillon-vaccin.

Le 18 janvier : température, 37°5; pouls, 120, régulier; au soir : température, 37°9, débâcle urinaire.

Le 21 janvier : température et pouls normaux. Dans les jours qui suivent, la guérison se maintient; la malade se lève le 6 février.

L'examen bactériologique des lochies et celui d'un prélèvement utérin avaient montré un *streptocoque* en chaînettes courtes et nombreuses.

Il s'agissait donc d'un cas d'infection puerpérale à streptocoque, traitée au quatrième jour d'une évolution à pronostic très grave, où « l'action thérapeutique d'une culture filtrée de streptocoques a pu être nettement démontrée ».

Infection puerpérale (par MM. Couvelaire, Lévy-Solal et Simard. *Bull. Soc. d'Obstétrique et de Gynécologie*, n° 4, séance du 7 avril 1924, p. 232). —

1. Il s'agit d'une femme qui, dès le lendemain d'un accouchement suivi d'une délivrance artificielle, eut une ascension thermique à 40°; frissons, pouls à 120, teint plombé. On sait la gravité de ces cas d'infection par inoculation directe de l'endomètre au cours de la délivrance artificielle. Cette forme sévère d'embée s'est maintenue grave pendant les deux jours suivants. On fit pendant trois jours consécutifs des injections de 80 cent. cubes de sérum antistreptococcique. La défervescence ne se produisant pas, le pouls demeurant toujours rapide, le teint plombé, la langue sèche, on fit une application intra-utérine de 80 cent. cubes du bouillon-vaccin (antistreptococcique), imbibant un tamponnement serré. Quatre pansements successifs furent pratiqués à vingt-quatre heures d'intervalle. A leur suite, on observa une défervescence progressive.

II. La même méthode fut appliquée à une deuxième femme qui, ayant eu dans les deux premiers jours des suites de couches une température normale, présenta au troisième jour une ascension brusque à 39°, puis à 40°5, et au quatrième jour à 41°. L'état général était grave, le teint terreux, le pouls à 130°, l'utérus gros, douloureux. On avait l'impression d'une infection à allure grave. La malade reçut d'abord des injections sous-cutanées de sérum antistreptococcique (80 cent. cubes) pendant trois jours. L'état général res-

tant grave, on fit 3 applications journalières dans l'utérus de mèches imbibées de bouillon-vaccin (antistreptococcique). A la suite, non seulement les lésions cervicales d'aspect grisâtre se modifièrent rapidement, mais l'état général se transforma du tout au tout. La défervescence complète et la guérison s'ensuivirent.

L'examen des lochies chez ces deux femmes décéla la présence de *streptocoques* hémolytiques.

Fistule pleurale (par M^{lle} Bass, MM. Soupault et Brouet, Clinique chirurgicale du Prof. Hartmann, à l'Hôtel-Dieu). — Dol... (Berthe), quarante quatre ans. Subit, le 12 juillet, l'amputation du sein gauche pour épithéliome. Quelques jours après, apparition de symptômes pleuro-pulmonaires.

Le 25 juillet, pleurotomie.

Le 30 juillet, mise en place de deux tubes de Carrel pour irrigation continue au Dakin. Durant tout le mois d'août, on continue ce traitement. Les prélèvements ont montré surtout la présence de *streptocoques*. L'écoulement putride persiste, en même temps que les oscillations de température à 38° et 39°. L'état général décline.

Il s'agit donc d'une fistule pleurale d'une évolution particulièrement longue; la malade est pleurotomisée depuis un mois déjà sans aucune amélioration; son état général est très touché.

Le 30 août, on commence à instiller du bouillon-vaccin antistreptococcique dans le trajet de la plèvre (60 cent. cubes chaque fois).

Après vingt jours de traitement, on voit la paroi s'obturer, en même temps que la fièvre disparaître, et l'état général se remonter.

Ci-dessous brièvement résumées quatre observations des malades atteints de lésions oculaires et traités, suivant le principe de la vaccinothérapie locale, par des instillations, des lavages du sac lacrymal et des pansements spécifiques. (Carrère, *Bull. Soc. Ophthalm.*, Paris, mars 1924, p. 106.)

OBS. I. — **Conjonctivite catarrhale chronique et dacryocystite purulente.** — *Staphylocoque* dans la sécrétion conjonctivale. *Streptocoque* dans le pus du sac. Instillations et lavages du sac au moyen d'un mélange du bouillon-vaccin antistaphylococcique et antistreptococcique. Guérison complète en quatre jours.

OBS. II. — **Phlegmon du sac lacrymal. œdème de la joue, chémosis.** — L'examen du pus révèle le *staphylocoque* doré. On l'ensemence en bouillon et on filtre suivant la technique usuelle. Les lavages du sac sont pratiqués avec ce vaccin qui est, en outre, appliqué en pansement pendant toute la nuit.

Au cinquième jour, la guérison est complète.

OBS. III. — **Blessure de la cornée par fil de fer.** — A l'examen, on constate du chémosis; la cornée présente une plaie paracentrale avec infiltration cornéenne étendue; la chambre antérieure est occupée par un hyppon; l'iris est sale, en myose, réagissant mal à la lumière. On trouve de nombreux *pneumocoques*.

On instille cinq fois par jour du bouillon-vaccin antipneumococcique. Vers le troisième jour, la cornée reprend sa transparence normale, la chambre antérieure est normale, l'iris est en mydriase.

OBS. IV. — Blépharite ulcéro-croûteuse aux deux yeux, ayant résisté à divers traitements locaux, chez une fillette. Staphylocoque doré. Le soir, application d'un pansement, conservé toute la nuit, à la culture filtrée de *staphylocoque*.

Le lendemain, l'infiltration des bords palpébraux a diminué. Il persiste de l'hyperémie marginale et des croûtelles fines à la base des cils. Le soir, décapage et pansement au bouillon-vaccin. Au réveil, la guérison paraît obtenue ; à peine si quelques squames et une légère hyperémie persistent ; tout traitement est cessé.

La fillette est ramenée une dizaine de jours après : à l'œil droit, quelques cils présentent des abcès folliculaires ; l'œil gauche paraît normal. Pansement au bouillon-vaccin. En quarante-huit heures, toute trace d'inflammation locale a disparu. Il y a un mois que tout traitement est supprimé ; aucune récurrence n'a été constatée.

Le fait le plus remarquable de ces quatre observations est, d'après l'auteur, la rapidité d'action produite par cette vaccinothérapie locale ; l'amélioration est déjà considérable en vingt-quatre ou quarante-huit heures, et la guérison complète la suit de près.

Dacryocystite bilatérale chronique (L. Carrère, *Soc. Sciences médic. et biol. Montpellier*, 14 mars 1924). — Observation résumée : Une malade présente une dacryocystite bilatérale depuis une quinzaine d'années. Lavages, caustiques, antiseptiques, cathétérismes ont été essayés sans succès. La malade réclame un traitement radical tel que l'ablation des sacs lacrymaux.

L'examen ayant révélé la présence de *pneumocoques*, l'auteur procède au lavage des sacs au bouillon-vaccin spécifique obtenu suivant la technique de Besredka.

Le lendemain, pour la première fois depuis quelques années, la malade s'est réveillée avec l'œil droit « non collé ».

On procède au nouveau lavage de deux sacs au bouillon-vaccin.

L'hyperémie conjonctivale ne subsiste plus qu'à l'œil gauche. Les jours suivants, on continue des lavages et des instillations au bouillon-vaccin.

Au septième jour, l'œil droit est complètement guéri : il n'y a plus de larmoiement, les voies lacrymales sont perméables. L'œil gauche présente un peu d'œdème palpébral, conséquence du cathétérisme de la veille ; le lendemain, l'œil gauche paraît normal ; on arrive cependant à faire sourdre deux ou trois gouttes liquides à la pression du sac. Lavage au bouillon-vaccin.

La malade est revue quatre jours après. La guérison s'est maintenue : il n'y a plus de larmoiement ; la pression du sac à droite et à gauche permet de constater qu'il n'y a aucune rétention.

Un mois après la cession du traitement, on constate que la guérison s'est maintenue, le larmoiement a disparu, les voies lacrymales sont parfaitement perméables.

En résumé : la médication usuelle, appliquée plus ou moins régulièrement

pendant quinze ans, n'avait permis d'obtenir aucun résultat; la vaccinothérapie spécifique locale a amené une guérison totale en une dizaine de jours.

Ce qui caractérise toutes ces observations que nous venons de relater, c'est la rapidité d'action des pansements à l'antivirus, surtout lorsque celui-ci est préparé avec le germe du malade lui-même (auto-antivirus); dès leur application sur la région infectée, celle-ci se décongestionne et devient centre d'attraction des globules blancs.

CONCLUSIONS.

Les cultures tuées de staphylocoques, injectées sous la peau, confèrent un certain degré d'immunité vis-à-vis de la lésion cutanée; injectées dans la peau, ces cultures vaccinent beaucoup mieux que sous la peau.

Les cultures filtrées de staphylocoques possèdent le même principe vaccinant que les cultures entières; leur mode d'action est beaucoup plus accusé. La substance contenue dans les filtrats, ou l'antivirus, agit d'autant mieux qu'elle est plus directement en contact avec la peau. Appliqué sur la peau, en pansement, le filtrat staphylococcique protège contre la lésion cutanée, l'escarre; étendu sur une large surface, il préserve contre la dose mortelle de virus introduit sous la peau. Cette action est rapide; elle n'est pas due aux anticorps.

Les cultures tuées de streptocoques, injectées sous la peau, ne donnent pas d'immunité aux animaux de laboratoire; injectées dans la peau, elles communiquent une certaine résistance qui est d'autant plus accusée que le nombre de points d'injections a été plus élevé (cuti-vaccination en nappe).

Les cultures filtrées de streptocoques renferment un antivirus spécifique. Ce dernier possède les mêmes affinités que la culture elle-même. Contre les streptocoques virulents inoculés sous la peau, l'antivirus n'est efficace qu'injecté dans la peau et surtout appliqué sur la peau : des compresses imbibées de filtrat confèrent aux cobayes et aux lapins une immunité solide non seulement contre l'infection locale, mais encore contre l'inoculation mortelle de virus sous la peau.

La vaccinothérapie repose sur le même principe : vaccination locale des tissus réceptifs, aboutissant à l'immunité locale de ceux-ci, sans qu'il y ait production d'anticorps.

LA TUBERCULOSE

PAR CONTAMINATION NATURELLE CHEZ LE LAPIN

par E. COULAUD.

(Institut Pasteur. Laboratoire de M. le professeur CALMETTE.)

On admet généralement que les animaux de laboratoire ne contractent pas la tuberculose par contamination naturelle, ce qui paraît bien singulier puisque ces mêmes animaux présentent une extrême sensibilité aux infections expérimentales.

Depuis quatre ans, j'ai observé 17 cas de tuberculose chez des lapins non inoculés, mais ayant cohabité avec des lapins tuberculeux.

Comme je n'utilise pour mes expériences que des animaux nés dans mon élevage et comme chaque changement de cage est soigneusement noté, j'ai pu chaque fois retrouver l'animal infectant. Dans plusieurs cas, je crois même avoir pu préciser les conditions de la contagion.

*
* *

La tuberculose spontanée du lapin était considérée par Koch comme un fait assez banal. Il disait en avoir observé 8 cas, mais tous n'avaient pas été bactériologiquement contrôlés. On sait combien certaines lésions de broncho-pneumonie avec hépatisation grise peuvent ressembler chez le lapin à des lésions tuberculeuses.

La tuberculose par contagion chez le cobaye paraissait également à Robert Koch un fait d'ordre banal. Il disait en avoir noté 15 cas. Or, sur ce point, tous les biologistes sont d'accord : la contagion par cohabitation est presque impossible à réaliser (1).

Les cas rapportés par Koch concernaient sans doute des animaux atteints de pseudo-tuberculose avec adénopathies mul-

(1) Cf. P. REMLINGER, *Ces Annales*, 37, 1923, pp. 686-784.

tiples, granulations dans le foie et la rate. On sait aujourd'hui que si la recherche du bacille dans les lésions a été négative, l'examen histologique seul permet de différencier la tuberculose du cobaye de la pseudo-tuberculose.

Strauss (1) n'a observé qu'un cas de tuberculose spontanée chez le lapin. Les lésions contenaient de très nombreux bacilles et étaient strictement limitées aux poumons. Avec Koch il estimait que ces lésions étaient dues à l'inhalation de bacilles virulents.

Guérin (2) a décrit 1 cas de tuberculose par contamination naturelle. Les lésions prédominaient aux poumons et aux reins. Les séreuses, le foie, présentaient également des tubercules.

Rothe (3) en 1909 a vu se produire de nombreux cas de tuberculose dans un élevage comprenant 80 à 90 lapins issus d'un même couple. Cet élevage se trouvait à proximité du sanatorium de Heidehaus, mais le bacille isolé de ces lapins tuberculeux présentait les caractères des bacilles bovins et Rothe n'a pu en préciser les conditions d'apport. Comme Strauss, et du fait de la prédominance des lésions pulmonaires, il admettait que la contagion se produisait par inhalation. Pourtant il avait noté la fréquence des lésions des ganglions mésentériques et même de la muqueuse intestinale. Il estimait que ces lésions, quand elles existent, ne traduisent que la généralisation de l'affection.

Une telle explication surprend un peu. Je n'ai personnellement jamais rencontré de tuberculose intestinale ou mésentérique chez les lapins que j'ai inoculés par voie sous-cutanée ou intraveineuse.

Cherchant à reproduire expérimentalement ces cas de tuberculose par contamination naturelle, Rothe fit cohabiter des lapins tuberculeux avec des lapins neufs. Il vit que ceux-ci contractent facilement la tuberculose si on a eu soin d'inoculer l'animal infectant avec 10 milligrammes de bacilles bovins

(1) STRAUSS. *La tuberculose et son bacille*, Paris, 1895, p. 373.

(2) GUÉRIN. *Hygiène de la viande et du lait*, 1907, p. 7.

(3) ROTHE, Etude sur la tuberculose spontanée du lapin. *Deuts. med. Woch.*, 4 avril 1912, p. 643 et *Veröffentlichungen der Robert Koch-Stiftung*, 1913, fasc. 4.

sous la peau et si les animaux sont laissés en contact dans une cage étroite. On n'obtient jamais d'infection tuberculeuse si l'on met un animal neuf dans une cage précédemment habitée et souillée par un animal tuberculeux. La présence de l'animal tuberculeux est nécessaire. Nous reviendrons sur plusieurs de ces faits.

Raymond (1) a signalé des lésions tuberculeuses pulmonaires rénales ou ganglionnaires observées chez un lapin et dues à un bacille bovin.

Récemment enfin, Bru (2) a observé des lésions des ganglions mésentériques et de l'intestin chez un animal qui présentait par ailleurs une granulie hépatique jeune et de l'ostéopériostite tuberculeuse.

*
* *

Les 17 cas de tuberculose par contamination naturelle que j'ai pu observer chez le lapin se décomposent ainsi :

Huit fois il s'agissait de tuberculose contractée par des lapins adultes.

Dans 9 cas, il s'agissait de jeunes lapins infectés par leur mère. Ce sont ces 9 cas et les problèmes qu'ils soulèvent qui font l'objet de ce mémoire.

*
* *

I. Le 22 mars 1921, j'ai tuberculisé un lot de 9 lapins avec une souche de bacilles isolés directement d'un pus de pneumothorax chez l'homme (souche Ay du D^r G. Kuss).

Chacun des lapins a reçu dans la veine 8/10 de milligramme de cette culture.

Sept de ces animaux succombèrent rapidement du dix-huitième au vingt-cinquième jour. Le lapin qui nous intéresse, le n° 167, une femelle, était mort le vingt-cinquième jour.

Ces 7 lapins, à l'autopsie, présentaient des poumons criblés de fines granulations, véritables blocs de semoule. Au microscope, on constatait une granulie généralisée. Dans tous les

(1) *Hygiène de la viande et du lait*, 1912, p. 430.

(2) BRU, Tuberculose spontanée avec lésions d'ostéopériostite. *Rev. gén. de Méd. vétér.*, 15 janvier 1923, p. 631.

viscères il existait une quantité innombrable de follicules tuberculeux très jeunes; on en trouvait dans tous les fragments examinés, dans le foie, la rate, les reins, les surrénales, les ovaires, le corps thyroïde, les muscles.

Le lapin 167, dont la survie avait été la plus longue (vingt-cinq jours), présentait des lésions particulièrement diffuses. Seul d'ailleurs de la série, il avait de l'ascite. Huit jours après l'inoculation, le 30 mars, il avait mis bas 4 petits.

Le 13 avril, les petits, âgés cependant de quatorze jours, ne sortaient pas du nid. Constatant leur mauvais état (ils paraissaient à peine âgés de neuf jours), craignant la mort prochaine de leur mère qui présentait une dyspnée très vive, je les isolai et je commençai, à l'aide d'une pipette, l'allaitement artificiel (lait de vache). La mère mourut deux jours après.

Je dus nourrir les petits durant neuf jours.

L'un d'entre eux, le Z. 8, mourut le 10 mai 1921 à l'âge de quarante et un jours. A l'autopsie, je découvris avec surprise au niveau du poumon droit une lésion corticale blanchâtre, ovulaire. Au pourtour de ce foyer principal se trouvaient quelques fines granulations. A la coupe, on constatait un important nodule caséeux sous-jacent. L'examen histologique permit de mettre en évidence dans la lésion de très nombreux bacilles de Koch.

Les 3 autres petits lapins, le 181, le 182, le 183, se développèrent normalement.

Le 10 mars 1922, à l'âge d'un an environ, le 183 commença à présenter une dyspnée progressive et mourut asphyxique le 18 mars 1922.

Autopsie : lobe supérieur gauche entièrement caséeux, creusé de cavités. Tout le reste du parenchyme pulmonaire était semé de gros noyaux de broncho-pneumonie caséeuse. Dans ces noyaux on retrouvait en grand nombre les bacilles de Koch. Il n'existait aucune lésion macroscopique au niveau des autres viscères.

Devant ces constatations, je sacrifiai les deux autres animaux de cette portée.

Le 182 avait, dans son poumon gauche, à l'union des lobes supérieur et moyen, une importante lésion caséeuse (1 centimètre de diamètre) limitée en bas par la scissure interlobaire.

A droite existaient trois petits nodules distincts, du volume d'un pois.

Le 181 était indemne de toute lésion tuberculeuse.

3 lapins sur 4 avaient donc contracté la tuberculose auprès de leur mère dans le court laps de temps (treize jours) où ils étaient demeurés auprès d'elle.

En exposant ces faits à la Section d'études scientifiques de l'œuvre de la tuberculose (1), j'attirais l'attention sur les points suivants :

1° Ces cas de tuberculose ne se présentaient pas comme se présente habituellement la tuberculose expérimentale du lapin. Seuls les poumons étaient lésés; les autres organes étaient intacts, même les reins, dans lesquels on ne trouvait pas au microscope un seul follicule tuberculeux, un seul groupe de lymphocytes suspects. Cette localisation strictement pulmonaire avait d'ailleurs été notée par Koch, puis par Strauss, dans les cas de tuberculose spontanée observés chez le lapin.

2° Comment l'infection de ces lapins avait-elle pu être réalisée?

La mère ne toussait pas; elle est morte du fait de la confluence de lésions très jeunes; à peine si le centre de quelques rares follicules pulmonaires commençait à se caséifier. D'autre part, les petits lapins ne sortaient pas encore du nid quand je les ai séparés de leur mère et les dimensions de la cage (1^m,20 sur 1 mètre) les mettaient à l'abri, dans une large mesure, des urines et des excréments probablement bacillifères. La contamination spontanée par voie respiratoire paraît donc fort peu vraisemblable.

L'infection par voie transplacentaire pourrait être invoquée. On admet que ce mode d'infection existe à l'état de fait exceptionnellement rare, mais on s'accorde pour lui attribuer des caractères particuliers (lésions hépatiques) qui ne se retrouvaient dans aucun des 3 cas signalés ci-dessus.

L'hypothèse la plus rationnelle est évidemment l'infection par voie digestive. Les 4 petits lapins ont été allaités par leur mère durant treize jours. Je n'ai pas examiné au microscope les

(1) E. COULAUD, Trois cas de tuberculose pulmonaire spontanée dans la progéniture d'un lapin granulique. *Section d'études scientifiques de l'œuvre de la tuberculose*, séance du 13 mai 1922.

mamelles de la mère, mais le foie, la rate, le corps thyroïde, les ovaires, le pancréas, le thymus, les surrénales, les muscles, *tous les organes examinés* contenaient d'innombrables follicules tuberculeux.

Les glandes mammaires présentaient sans doute des lésions analogues et le lait contenait certainement des bacilles.

D'autre part, chez le lapin, la sensibilité à la tuberculose est d'autant plus grande que l'animal est plus jeune [Cobbet] (1) et ici le lait chargé de bacilles était ingéré par de petits lapins dès les premières tétés.

L'intestin, les ganglions mésentériques ne paraissaient pas lésés, mais, chez le lapin, les faits de cet ordre sont la règle et des doses de bacilles importantes, de l'ordre du 1/10.000^e de milligramme, inoculées sous la peau ou déposées sur la conjonctive ne se traduisent pas par des lésions locales microscopiques. *Exception faite des inoculations à dose massive, la lésion initiale de la tuberculose pulmonaire, chez le lapin, se trouve au poumon, quel que soit le point d'inoculation.* La lésion caséuse constatée au niveau de l'appareil respiratoire ne peut donc donner aucun renseignement sur le point où s'est effectuée la pénétration du bacille. La lésion pulmonaire, souvent unique, se présente fréquemment avec l'aspect d'un chancre d'inoculation, chancre d'inoculation indirect en réalité, qui peut être consécutif à une inoculation conjonctivale, vaginale, sous-cutanée, digestive.

Le fait qu'il n'existait pas de lésion locale ne peut donc en rien infirmer l'hypothèse de la contamination par voie digestive.

Un nouveau cas de tuberculose spontanée devait bientôt confirmer pleinement celle-ci.

Avant leur mort, j'avais fait reproduire le 183 M. et le 182 F. Le 10 février, j'ai obtenu une portée de 7 petits lapins bien constitués que j'ai laissés trente jours au contact de leurs parents tuberculeux.

Sur ces 7 lapins, 3 sont morts de pasteurellose (339, 342, 343). L'autopsie a montré qu'ils étaient indemnes de tuberculose, mais les lésions nécrotiques étendues qu'ils présen-

(1) COBBET. *The causes of tuberculosis*, 1917, Cambridge.

taient au niveau des poumons rendaient cet examen assez illusoire.

Le 338 M. est devenu dyspnéique à l'âge de trois mois et demi. Le 29 mai 1922, il mourait en état d'asphyxie. A l'autopsie, j'ai constaté dans les poumons des lésions tuberculeuses confluentes, caséeuses. Il existait, en outre, des lésions rénales importantes.

Comment cet animal a-t-il contracté la tuberculose? Ici le problème ne se pose pas comme il se posait pour les 3 cas précédents. Le 338 est resté un mois au contact de ses parents. Ceux-ci toussaient, car ils étaient porteurs de lésions pulmonaires étendues et caséeuses. Rien dans les commémoratifs ne pouvait donc orienter vers une hypothèse plutôt que vers une autre. Mais, au cours de l'autopsie de la cavité abdominale, j'ai trouvé une masse compacte, grosse comme une noix, comprenant des anses intestinales et des ganglions mésentériques caséeux.

J'ai prélevé le bloc entier. Les coupes ont montré qu'il s'agissait de lésions tuberculeuses contenant de très nombreux bacilles.

La voie intestinale, qui m'avait paru la plus vraisemblable pour expliquer la tuberculose des parents, se trouvait donc confirmée dans le cas du 338 qui présentait à l'autopsie une lésion tuberculeuse locale.

Les 3 autres lapins de cette même portée, tuberculins à trois reprises différentes, *n'ont jamais réagi*.

Sacrifiés en septembre 1923, *l'un d'eux (337) fut trouvé porteur de deux petits tubercules pulmonaires à centre caséeux, de 1 à 2 millimètres de diamètre chacun*.

Il est certain que cette famille de lapins présentait une réceptivité particulière à la tuberculose. Il s'agissait, en effet, dans tous ces cas, d'un bacille d'origine humaine et l'on sait que le lapin est relativement peu sensible à ce bacille.

Peut-être cette sensibilité particulière est-elle due au fait que ces animaux étaient issus d'un même couple. Il ne s'agit là que d'une hypothèse, mais il est à noter que, dans les cas observés par Rothe, il en était de même.

Peut-être aussi le passage sur deux générations de lapins avait-il exalté la virulence du bacille sur ce terrain familial.

II. Outre ces 5 lapins ayant contracté la tuberculose dans les trente premiers jours de leur existence, j'ai observé d'autres cas de tuberculose contractée dans des conditions analogues. Voici les observations brièvement résumées :

Le 10 mars 1921, j'ai inoculé 16 animaux avec 1/10^e de milligramme de bacilles bovins peu virulents, par voie intraveineuse. Parmi eux se trouvait le 136 F. Le 22 avril 1921, cette femelle met bas 5 petits. Le 17 juin 1923, elle meurt. On trouve, à l'autopsie, d'énormes lésions pulmonaires caséuses et cavitaires et des lésions rénales étendues.

Les petits sont restés un mois et demi au contact des parents.

Deux d'entre eux, bien portants, vigoureux, éprouvés trois fois à la tuberculine à trois mois d'intervalle et *ne réagissant pas*, sont inoculés le 23 avril 1922 et cessent donc de nous intéresser ici.

Des 3 autres, l'un, le Z. 17, meurt à quinze jours. Son autopsie n'a pas été faite.

Le Z. 16, paraissant maigre, est sacrifié le 10 octobre 1921 à l'âge de cinq mois et demi. Il présente quelques granulations très discrètes au niveau des poumons. L'examen histologique montre qu'il s'agit de follicules tuberculeux.

Le Z. 18 devient brutalement paralysique le 15 août 1921. On le sacrifie le 15 septembre. Il présente trois ou quatre granulations très fines au niveau des poumons. Bien que les autres viscères paraissent sains, des fragments sont prélevés pour l'examen histologique. On découvre au microscope une lésion tuberculeuse rénale, caséuse, contenant de nombreux bacilles. A noter l'importance exceptionnelle de la lésion caséuse rénale par rapport à la discrétion des lésions pulmonaires. Il s'agissait cependant d'un bacille bovin. Il est vrai que tous les lapins issus de cette famille se sont toujours montrés particulièrement résistants à l'infection tuberculeuse.

Le contact du Z. 16 et du Z. 18 avec leurs parents avait duré un mois. Ceux-ci étaient porteurs de lésions pulmonaires cavitaires. Il est donc impossible pour ces cas d'attribuer au bacille telle ou telle porte d'entrée.

III. Chez un lapin de quatre mois, le 576, qui avait reçu plusieurs injections d'un sérum thyro-toxique, j'ai découvert dans le foie un follicule tuberculeux entouré d'un anneau scléreux. Ce

follicule était très riche en cellules géantes contenant des bacilles.

Le 576 était issu d'une mère tuberculeuse; le 392, inoculé un an auparavant avec un bacille humain (souche Ay 4/10.000^e de milligramme en injection sous-cutanée). Il avait vécu trente jours à son contact.

IV. A l'autopsie du lapin 458 (fils d'une lapine âgée, le 176, dont il sera longuement question dans un mémoire ultérieur sur la tuberculose par contamination naturelle chez le lapin adulte), j'ai découvert un rein atrophié, scléreux, dont la surface présentait de nombreuses cicatrices déprimées et dans lequel existait un calcul de 6 à 8 millimètres de diamètre occupant le bassinet.

Dans presque toute l'étendue du rein, on remarquait une sclérose irrégulière, en forme de coin, à pointe orientée vers la médullaire rénale. Ces caractères rappelaient déjà singulièrement la tuberculose rénale du lapin en voie de guérison; j'ai pu découvrir, en outre, des zones de sclérose moins bien organisées, au milieu desquelles on rencontrait encore des travées de cellules épithélioïdes.

Il s'agissait, dans ce cas, d'une tuberculose rénale unilatérale à forme scléreuse, le calcul représentant vraisemblablement la transformation calcaire de la lésion caséuse classique du bassinet, dernier stade de la tuberculose du rein chez le lapin.

Je n'ai trouvé aucune lésion au niveau des autres viscères.

ANATOMIE PATHOLOGIQUE DE LA TUBERCULOSE PAR CONTAMINATION NATURELLE CHEZ LE LAPIN.

Elle présente quelques particularités intéressantes. Il est nécessaire, pour mieux les étudier, de diviser nos 9 cas en deux groupes :

1^o Les formes caséuses avec énormes masses caséifiées dans les poumons. Ces masses s'étendent de proche en proche, paraissant limitées momentanément par les scissures interlobaires (4 cas)(1).

(1) Cette limitation du processus tuberculeux par l'interlobe est à opposer aux lésions observées chez le lapin au cours des maladies aiguës. Les foyers pneumoniques chevauchent toujours dans ces cas sur les scissures interlobaires. Des faits analogues s'observent chez l'homme.

2° Les formes discrètes (5 cas), dans lesquelles on note au plus 3 ou 4 granulations miliaires dans les poumons et des lésions rénales ou hépatiques; ces formes ne paraissent avoir aucune tendance à l'extension.

Dans le premier groupe, les lésions étaient, trois fois sur quatre, strictement limitées au poumon. Il n'existait pas un seul follicule tuberculeux dans les reins ni dans un autre viscère. Chez un seul animal le rein était lésé et l'évolution du processus tuberculeux avait alors été particulièrement sévère, puisqu'elle a déterminé la mort à l'âge de trois mois et demi. C'est dans ce cas d'ailleurs qu'a pu être observée la lésion locale intestinale. L'ingestion de bacilles avait dû être massive.

Dans le second groupe, un des animaux présentait une lésion rénale caséuse, contrastant avec la discrétion des lésions pulmonaires. Un autre avait également des lésions strictement limitées à un rein. Un autre enfin des lésions limitées au foie. Il paraît bien, chez le lapin comme chez l'homme, exister une certaine opposition entre les tuberculoses pulmonaires évolutives et les autres tuberculoses, viscérales ou externes. Celles-ci semblent le fait soit d'une infection par un très petit nombre de bacilles, soit d'une résistance particulière des animaux.

D'ailleurs, si les lapins présentent à l'infection tuberculeuse une résistance plus grande, les reins ne sont pas atteints. Les lésions pulmonaires très discrètes n'évoluent pas et les animaux peuvent vivre indéfiniment. Ces lésions pulmonaires non évolutives ne sont pas scléreuses. Elles demeurent très longtemps constituées par des cellules épithélioïdes assez nombreuses, ne présentant guère de tendance à la caséification. On peut cependant y colorer des bacilles. Puis, à la longue (huit ou dix mois au moins), se constitue un manchon lymphocytaire de plus en plus épais. Certains nodules finissent par ne plus comporter que les lymphocytes et c'est l'abondance de ces éléments qui semble caractériser ces lésions pulmonaires non évolutives du lapin.

Plusieurs faits m'ont paru intéressants à préciser :

1° Dans ces cas de tuberculose par contamination naturelle, les lésions diffèrent notablement des lésions expérimentales

habituelles. J'ai pensé qu'il serait intéressant de reproduire des lésions analogues et, dans ce but, j'ai infecté par voie digestive de très jeunes lapins.

2° Chez un de mes animaux (337) la lenteur de l'évolution de la tuberculose (2 très petites granulations tuberculeuses en dix-huit mois) m'a fait entreprendre une série de recherches sur la période de latence de l'infection réalisée avec de petites doses de bacilles.

3° Plusieurs animaux n'ayant pas réagi à la tuberculine et ayant été reconnus tuberculeux à l'autopsie, j'ai essayé de préciser dans quelles conditions les lapins tuberculeux sont sensibilisés à la tuberculine.

LA TUBERCULOSE PAR INGESTION CHEZ LE JEUNE LAPIN.

Le 25 juin 1922, 9 lapins, âgés de quarante-cinq jours, ont ingéré chacun, en un seul repas, 1 centigramme de bacilles bovins (cult. bov. Vallée) (1).

Deux de ces lapins sont morts au bout de huit mois, ils avaient des lésions tuberculeuses confluentes au niveau des poumons, lésions *tout à fait analogues à celles que j'ai observées dans les cas de tuberculose spontanée du jeune lapin.*

Chez 3 autres, on notait un ou plusieurs gros nodules caséeux pulmonaires.

Les 4 derniers, enfin, n'avaient que des lésions pulmonaires très discrètes, 2 à 10 granulations très fines, de 1 millimètre de diamètre environ, à la surface des poumons.

Ces derniers animaux, éprouvés à la tuberculine huit mois après l'infection (1 cent. cube de tuberculine brute diluée au 1/50^e par voie intraveineuse), n'avaient pas présenté d'ascension thermique supérieure à 0°6. L'épreuve avait donc été négative. Ce fait est à rapprocher de ce que j'avais noté pour le lapin 337.

Seuls, deux animaux de cette série présentaient des lésions intestinales et mésentériques. Ce sont les deux animaux porteurs des lésions pulmonaires confluentes. Un plus grand nombre de

(1) Emulsion de bacilles dans du lait présenté à chaque animal à la pipette. Jamais, dans mes expériences, la sonde n'a été utilisée.

bacilles s'étant fixé sur la muqueuse intestinale, il y a eu lésion locale et évolution plus rapide.

Utilisant la même souche de bacilles bovins, j'ai tenté d'infecter 2 jeunes lapins en employant des doses plus faibles : 1 milligramme en 3 repas. *Sacrifiés trop précocement*, un mois et demi et deux mois et demi après l'infection, ils ne présentaient aucune lésion.

Dans cette expérience, il s'agissait de lapins de quarante-cinq jours, non de lapins très jeunes, allaités par leur mère. Aussi, ai-je entrepris 2 nouvelles séries pour me rapprocher davantage des conditions dans lesquelles s'étaient produits les cas de contamination naturelle.

Utilisant la même culture de B. bovins, j'ai fait ingérer à des lapins âgés de dix jours les doses suivantes :

350	}	1/100 ^e de milligramme par repas. 3 repas à 10-12 et 14 jours
351		
352	}	1/10 ^e de milligramme par repas. 3 repas à 10-12 et 14 jours.
353		

Tuberculins trois mois après, donc peu de temps après les repas infectants, ces animaux ne réagissaient pas à la tuberculine. Les considérant comme non tuberculeux, je les ai utilisés pour d'autres expériences, sauf l'un d'entre eux qui, sacrifié six mois après les repas infectants, ne présentait pas de lésion tuberculeuse macroscopique.

Dans une dernière série, j'ai utilisé un B. humain très virulent (souche Ay de M. Kuss), que j'ai fait absorber à 4 lapins âgés de neuf jours. Voici les doses ingérées par ces jeunes lapins :

359	}	1 milligramme par repas. 3 repas à 9, 11, 13 jours.
360		1/2 milligramme par repas. 3 repas à 9, 11, 13 jours.
361		
362		1/10 ^e de milligramme par repas. 3 repas à 9, 11, 13 jours.

Tuberculins deux mois et cinq mois après les repas infectants, aucun de ces animaux n'a réagi par plus de 0°6. La réaction a donc été négative. J'ai sacrifié au bout de cinq mois le 362; il ne présentait aucune lésion tuberculeuse.

Par prudence, j'ai conservé longuement les 3 autres animaux. J'ai sacrifié le 359 au bout de neuf mois. Il avait plusieurs

granulations tuberculeuses de 1 millimètre à 2 millimètres dans les poumons. L'une d'elles contenait des bacilles.

Le 361, au bout de dix mois et demi, présentait des masses cervicales volumineuses (une noix). Sacrifié, il ne présentait pas de tuberculose pulmonaire, mais les masses cervicales étaient des ganglions tuberculeux caséeux contenant des bacilles.

A noter l'opposition entre ces lésions ganglionnaires et l'intégrité des poumons. Le 360, sacrifié treize mois et demi après les repas infectants, avait des lésions pulmonaires extrêmement discrètes : 3 ou 4 très fines granulations tuberculeuses typiques (examen histologique). Il avait été tuberculiné onze mois et demi après les repas infectants, et n'avait présenté qu'une ascension thermique de 0°6.

Donc, bien qu'infectés avec des bacilles humains, à dose assez élevée il est vrai, mais avec 3 repas infectants seulement, j'ai obtenu des lésions tuberculeuses chez les 3 lapins que j'ai conservés un temps suffisant (1) pour permettre à ces lésions de se constituer.

Chez aucun de ces animaux je n'ai noté de lésions intestinales ou mésentériques.

En résumé :

1° On n'observe pas de lésions locales si la dose ingérée n'est pas massive. Ce point a d'ailleurs été parfaitement démontré par M. Calmette.

2° Les lésions pulmonaires sont *tout à fait semblables* à celles qu'on observe dans la tuberculose spontanée.

3° Le temps qui s'écoule entre l'apparition des lésions pulmonaires et l'ingestion des produits infectants peut être très long.

DURÉE DE LA PHASE LATENTE DE LA TUBERCULOSE CHEZ LE LAPIN.

Utilisant la souche de bacilles bovins dite « Bovine Vallée », j'ai inoculé des lapins avec des doses variables de bacilles. J'ai

(1) C'est sur la foi de réactions tuberculiniques négatives, mes animaux n'ayant pas été sacrifiés, que j'avais dit n'avoir pu tuberculiser mes lapins par ingestion. *Section d'études scientifiques de l'œuvre de la Tuberculose*, 16 décembre 1922.

pu établir les points suivants : Avec une dose égale ou inférieure à $1/1.000^e$ de milligramme de bacilles émulsionnés dans l'eau physiologique (1), je n'ai jamais obtenu d'abcès local ou même de nodules sous-cutanés. Au bout de deux mois environ, donc après une latence relativement courte, apparaît une lésion pulmonaire le plus souvent unique, siégeant sur le bord postérieur d'un poumon et qui s'étend rapidement. Cette lésion caséuse rappelle tout à fait la lésion dite « chancre d'inoculation », lésion qui constitue encore aujourd'hui, aux yeux de nombreux médecins, la preuve de l'infection directe par voie respiratoire.

Avec une dose de $1/100.000^e$ de milligramme, le premier nodule pulmonaire apparaît entre soixante-quinze et quarante-vingt-dix jours.

Avec une dose de $1/1.000.000^e$ de milligramme, la période de latence est infiniment plus longue. Les nodules pulmonaires (3 à 6), très discrets, ne paraissant avoir aucune tendance évolutive, apparaissent dans les poumons entre cinq et neuf mois après l'inoculation.

Si on utilise un bacille humain très virulent, à la dose de $1/10.000^e$ de milligramme, il faut plusieurs mois (trois ou quatre au moins) pour qu'apparaissent les premières lésions pulmonaires : 3 à 6 granulations évoluant lentement et ne déterminant pas en dix-huit mois la mort de l'animal. A ce moment, elles atteignent au maximum le volume d'un pois. Leur centre est caséux.

Si on utilise un bacille humain d'une virulence moyenne (souche A) du laboratoire de M. Calmette, on obtient, à la dose de $1/100^e$ de milligramme, une période de latence qui va de cinq à dix mois. On note ensuite dans le poumon des lésions très discrètes qui, dans la majorité des cas, ne semblent pas évoluer et, au bout de dix-huit mois, ne consistent qu'en quelques granulations miliaires.

Inutile de dire que, bien qu'il s'agisse dans ces cas d'inoculation sous-cutanée, on n'observe jamais de lésion locale.

On voit par ces exemples combien la période latente de l'infection tuberculeuse peut se prolonger. Dans ces diverses

(1) Injectés sous la peau.

expériences, comportant une soixantaine de lapins, il s'agissait de lapins inoculés dans les 3 premières semaines de leur existence. Chez le lapin adulte, la période de latence est infiniment plus longue.

On comprend ainsi que tout observateur qui ne conserve pas longtemps ses animaux puisse tirer de ses expériences des conclusions très différentes de celles qu'elles comportent.

SENSIBILITÉ A LA TUBERCULINE DU LAPIN TUBERCULEUX.

On a pu remarquer dans ce travail que j'ai signalé à plusieurs reprises des réactions tuberculiniques négatives chez des animaux présentant à l'autopsie des lésions tuberculeuses.

J'ai repris complètement cette question des réactions tuberculiniques chez le lapin (1).

Contrairement à l'opinion récente de Paraf (2), chez le lapin, la méthode la plus sensible est l'injection sous-cutanée ou intraveineuse de tuberculine brute diluée au 1/100^e, 1/50^e ou 1/25^e. J'ai, dans tous les cas, utilisé la voie intraveineuse, et j'ai pris ensuite la température des animaux d'heure en heure. L'ascension thermique maxima a lieu entre la cinquième et la septième heure. On considère comme positive une réaction atteignant 1°.

Voici les résultats de mes recherches portant sur 300 réactions tuberculiniques environ.

Tous les animaux inoculés par voie intraveineuse, même si l'inoculation a été pratiquée avec un bacille humain, un bacille avirulent ou un bacille mort, réagissent rapidement à la tuberculine.

Quand il s'agit d'inoculation à petite dose par voie oculaire, sous-cutanée ou digestive, les résultats sont très différents. L'inoculation a-t-elle déterminé des lésions pulmonaires importantes? l'animal réagit à la tuberculine.

Les lésions sont-elles peu volumineuses (grosesse d'un pois par exemple)? les réactions peuvent ne pas être très nettes si la

(1) E. COULAUD, Absence de réaction tuberculinique au cours de la tuberculose torpide du lapin. *C. R. Soc. Biol.*, **12**, n° 1, p. 24.

(2) *Revue de la Tuberculose*, n° 5, 1923, p. 552.

dose de tuberculine n'atteint pas 1 cent. cube de la dilution de tuberculine brute au $1/23^{\circ}$.

Si les lésions sont du type des lésions très discrètes signalées plus haut, jamais les animaux ne réagissent, même si la dose de tuberculine brute injectée dans la veine atteint $1/10^{\circ}$ de cent. cube, ou même $1/2$ cent. cube de tuberculine brute.

On comprend assez bien que les animaux ne réagissent pas quand les lésions macroscopiques ne se sont pas constituées. Il s'agirait alors de la période antéallergique sur laquelle insistaient récemment MM. Debré, Paraf, Bonnet, Dautrebande.

Mais, dans les cas qui nous préoccupent, cette explication n'est pas valable. En effet, un an après l'infection, alors qu'il existe des lésions pulmonaires nettes, l'animal ne réagit pas à la tuberculine, quelle que soit la dose d'épreuve.

C'est sur la foi de réactions tuberculiniques négatives que j'ai dû laisser passer, sans les reconnaître, d'assez nombreux cas de tuberculose par contamination naturelle, les animaux ayant été utilisés comme animaux neufs.

CONCLUSIONS.

En résumé, les jeunes lapins sont susceptibles de contracter spontanément la tuberculose humaine ou bovine. Mâles et femelles sont indifféremment frappés.

Ils peuvent présenter deux formes de la maladie :

Une forme pulmonaire, caséreuse, progressive, mortelle, s'accompagnant rarement de lésions rénales ;

Une forme caractérisée par des lésions pulmonaires très discrètes (1 à 3 granulations miliaires non évolutives) et pouvant s'accompagner de lésions rénales ganglionnaires, d'une durée indéfinie.

Contrairement à l'opinion de R. Koch, de Strauss, de Rothe, il n'y a aucune raison d'admettre que ces tuberculoses soient des tuberculoses d'inhalation. Ainsi que je l'ai longuement exposé, la localisation au poumon, chez le lapin, ne signifie nullement qu'il s'agisse d'une tuberculose d'inhalation.

Dans la majorité des cas, cette tuberculose du jeune lapin

reconnaît évidemment une origine digestive, qu'il existe ou non une lésion intestinale.

C'est d'ailleurs dans le cas de tuberculose expérimentale par ingestion que j'ai observé des formes anatomiques de tuberculose rigoureusement superposables à celles résultant d'une contamination naturelle.

Les cas de contamination tuberculeuse chez le jeune lapin sont donc beaucoup plus fréquents qu'on ne l'a cru jusqu'à présent. Mais, chez cet animal, la phase latente de la maladie se prolonge et la réaction tuberculinique est infidèle.

D'autre part, on ne conserve que bien rarement, sans les utiliser pour une nouvelle expérience, les lapins nés dans un élevage de laboratoire. De nombreux cas de tuberculose par contamination naturelle doivent donc passer inaperçus.

ÉTUDES SUR LE STREPTOCOQUE GOURMEUX

(QUATRIÈME MÉMOIRE)

par BROCC-ROUSSEU, FORGEOT et ACHILLE URBAIN.

Action protéolytique.

Tissier et A. de Coulon ont écrit que les streptocoques humains hémolytiques produisent dans le lait ordinaire une coagulation avec très forte rétraction du caillot et que certaines variétés très pathogènes digèrent une partie notable de la caséine (1).

Tissier et Y. de Trévisé ont émis cette opinion que l'action protéolytique d'un streptocoque est liée à son pouvoir pathogène (2).

Wollman, A. Urbain et Ostrowsky (3) ont vu que le pouvoir protéolytique s'étendait aussi aux streptocoques des animaux, sans que ce pouvoir soit différent, suivant le pouvoir pathogène du microbe.

Nous avons repris cette question avec un certain nombre de streptocoques gourmeux et de streptocoques d'autres animaux, et nous avons opéré sur le lait et sur des gélatines dont le pH avait été déterminé au préalable et dont un certain nombre furent mises obligeamment à notre disposition par M. Tissier.

Voir les résultats dans le tableau suivant.

Ces résultats ne concordent pas avec ceux que MM. Tissier et de Coulon ont obtenu avec les streptocoques humains, en ce qui concerne le pouvoir hémolytique et les actions coagulante et protéolytique. En effet, nos cinq streptocoques gourmeux

(1) TISSIER et A. de COULON, Action du streptocoque pathogène sur la caséine. *C. R. Soc. de Biologie*, 7 février 1920, p. 110.

(2) TISSIER et Y. de TRÉVISÉ, Action du streptocoque pathogène sur la gélatine. *C. R. Soc. de Biologie*, 7 février 1920, p. 127.

(3) WOLLMAN, URBAIN et OSTROWSKY, Application de la technique au *B. coli*, à l'étude du pouvoir protéolytique des streptocoques. *C. R. Soc. de Biologie*, 2 décembre 1922, p. 1138.

sont hémolytiques pour les globules de cheval et aucun d'eux ne liquéfie la gélatine ni ne coagule le lait, pas plus, du reste, que les autres streptocoques étudiés. Par contre, cette expérience contrôle ce que nous avons déjà dit, à savoir que, d'ordinaire, le streptocoque gourmeux ne coagule pas le lait.

SOUCHES	GÉLATINE pH = 7	GÉLATINE A pH = 6,5	GÉLATINE B pH = 6	GÉLATINE C pH = 5,6	LAIT	OBSERVATIONS
<i>Streptocoques gourmeux :</i>						
Caen	0	0	0	0	0	Tue le rat.
B. 734	0	0	0	0	0	Non pathogène.
Infutable	0	0	0	0	0	Tue le cobaye
Carpano	0	0	0	0	0	Tue la souris.
Saint-Varent 2.865	0	0	0	0	0	Tue le rat.
<i>Streptocoques de lymphangites :</i>						
Alep	0	0	0	0	0	Tue la souris.
Arsène	0	0	0	0	0	Tue la souris.
Nubie	0	0	0	0	0	Tue la souris.
<i>Streptocoques divers :</i>						
De la vache	0	0	0	0	0	Tue la souris.
Du chien	0	0	0	0	0	Tue la souris.
Du porc	0	0	0	0	0	Tue la souris.
0 signifie pas de liquéfaction.						

Il n'y a pas non plus de concordance entre le pouvoir protéolytique et le pouvoir pathogène.

Nous avons aussi recherché le pouvoir protéolytique au moyen de la technique décrite par Wollman (1). Le procédé consiste à ensemencer successivement le germe à étudier et du *B. coli*. Ce dernier ne produit de l'indol que si une albumine a été préalablement attaquée par le germe ensemencé le premier. Le milieu employé a été de l'albumine d'œuf diluée au cinquième dans de l'eau distillée; le *B. coli* a été semé quatre à cinq jours après le streptocoque et la recherche de l'indol a été

(1) WOLLMAN, *B. coli* comme indicateur de la protéolyse. *C. R. Soc. de Biologie*, 6 décembre 1919, p. 1263.

faite, après quarante-huit heures de culture, par le réactif d'Ehrlich.

Voici les résultats :

Streptocoques gourmeux :

Bonnafois 734 (1)	+++	Non pathogène.
Saint-Varent 2.865.	++	Tue le rat.
B H 480	+	Non pathogène.
Caen.	++	Tue le rat.
376.	++	Tue la souris.
Infutable.	++	Tue le cobaye.

Streptocoques de lymphangites :

Nubie.	+	Tue la souris.
Arsène	++	Tue la souris.
Alep.	++	Tue la souris.

Streptocoques divers :

De la salive du cheval	++	Non pathogène.
Du veau.	++	Tue la souris.
Du chien	+++	Tue la souris.
De la vache	++	Tue la souris.

En résumé, les streptocoques équins gourmeux ou non et ceux des autres animaux n'ont aucune action protéolytique vis-à-vis de la gélatine, même lorsqu'ils sont très virulents.

Par contre, cette action est exercée par tous les streptocoques lorsqu'on les ensemece dans de l'albumine au cinquième; mais, là encore, il n'y a aucune différence entre les souches pathogènes ou non.

L'action protéolytique ne paraît donc avoir aucun rapport, pour les streptocoques étudiés, avec le pouvoir pathogène.

Hémolyse.

Dans un précédent mémoire (2), nous avons étudié l'action de la streptocolysine, préparée suivant le procédé que nous avons indiqué, sur les hématies de cheval, de mouton et de

(1) Le signe +++ signifie réaction très forte.

Le signe ++ signifie réaction forte.

Le signe + signifie réaction faible.

(2) BROCC-ROUSSEU, FORGEOT et URBAIN, Etudes sur le streptocoque gourmeux. Ces *Annales*, 36, p. 646.

cobaye, et nous avons constaté que tous les streptocoques équins gourmeux possèdent une lysine active pour les globules de cheval, tandis que les streptocoques équins d'autres provenances et les streptocoques des autres animaux ne donnent pas d'hémolysine active vis-à-vis des mêmes globules.

Nous avons recherché comment agissait la culture totale des streptocoques sur les hématies des autres animaux et s'il y avait parallélisme entre l'hémolyse produite dans ces conditions et l'action de la streptocolysine. Nous avons utilisé la culture totale en bouillon sérum, âgée de vingt quatre heures. A 1 cent. cube d'émulsion globulaire à 5 p. 100, dans l'eau physiologique, on ajoute des quantités décroissantes de culture aux taux suivants : 1/2 cent. cube, 1/10^e, 1/100^e, 1/1.000^e et 1/10.000^e. Ces opérations sont faites en évitant toute cause de souillure (stérilisation des tubes, des pipettes, etc.); d'ailleurs, on conserve toujours, pour chaque espèce globulaire, un tube témoin contenant seulement l'émulsion globulaire.

Les tubes sont portés à 37° pendant deux heures, puis laissés à la température du laboratoire pendant douze heures. La plupart des streptocoques commencent à hémolyser après deux heures d'étuve, mais il est préférable de lire les résultats après douze heures, ceux-ci étant beaucoup plus nets.

Nos examens ont porté sur 54 souches des streptocoques ci-après :

Gourmeux	30	streptocoques
Non gourmeux	13	—
Animaux autres que le cheval	5	—
Humains	6	—

que nous avons fait agir sur les hématies de cheval, de mouton et de cobaye.

1° STREPTOCOQUES GOURMEUX. — Ces streptocoques ont été isolés, pour la plupart, d'adénites suppurées; deux seulement proviennent de septicémies gourmeuses et ont été isolés du sang des cadavres. Ils ont tous fait d'assez nombreux passages en bouillon sérum, mais aucun passage *in vivo*; les plus récemment isolés ayant été prélevés depuis un an. La majorité de ces streptocoques (28 sur 30) donnent une hémolyse très mar-

quée sur les trois espèces de globules que nous avons utilisés ; deux ne donnent rien. Nous avons repris ces deux streptocoques (1368 et Tarbes) et les avons semés en sérum de lapin chauffé préalablement trente minutes à 55°. Après vingt-quatre heures de séjour à l'étuve, nous avons filtré ces cultures sur bougie Chamberland pour obtenir la streptocolysine et nous avons vu que l'un d'eux (1368) ne donnait pas de streptocolysine pour les trois espèces globulaires utilisées, tandis que l'autre (Tarbes) donnait une streptocolysine active seulement vis-à-vis des hématies du cheval. D'autre part, le streptocoque 1368 montre une valeur antigène très faible vis-à-vis d'un sérum antigourmeux riche en anticorps, alors que le streptocoque Tarbes a, au contraire, un pouvoir fixateur très marqué. Cela semble indiquer que le streptocoque 1368 a des propriétés différentes de la majorité des streptocoques gourmeux ; constatation que nous avons déjà faite dans notre précédent mémoire, avec le streptocoque Ribaut-Macon.

Nous avons constaté que le taux limite de la dilution de la culture permettant de noter l'hémolyse est de 1/1.000°.

2° STREPTOCOQUES ÉQUINS NON GOURMEUX. — Nous en avons examiné 13 dont :

8 isolés de lymphangites ;

4 isolés des humeurs (sang ou liquide céphalo-rachidien) de chevaux atteints de paraplégie ;

1 isolé d'une pleuro-pneumonie.

12 sur 13 n'ont provoqué aucune hémolyse. Un seul (Méphisto), isolé d'une lymphangite, a donné une légère hémolyse avec les hématies du cheval seulement ; il se rapproche donc des streptocoques gourmeux par ce caractère, mais il s'en éloigne par son absence de pouvoir antigène vis-à-vis d'un sérum antigourmeux.

3° STREPTOCOQUES D'ANIMAUX AUTRES QUE LE CHEVAL. — Nous avons examiné les streptocoques des animaux ci-après :

Chien, poule, veau, porc, vache.

Aucun d'eux n'a donné d'hémolyse.

4° STREPTOCOQUES HUMAINS. — Nous en avons examiné 6 :

Otite, liquide céphalo-rachidien, liquide pleural, crachat, urine, pneumonie.

3 donnent une hémolyse nette avec les 3 espèces d'hématies (pneumonie, urine, crachat); 1 donne une hémolyse faible (liquide pleural); 2 sont négatifs.

En résumé, l'ensemble des streptocoques étudiés au point de vue de leur pouvoir hémolytique a donné des résultats concordant avec ceux que nous avions précédemment obtenus avec la streptocolysine, savoir :

a) Les streptocoques gourmeux possèdent un pouvoir hémolytique marqué sur les trois espèces globulaires utilisées avec, cependant, une action plus intense sur les globules de cheval;

b) Les streptocoques équins non gourmeux et les streptocoques des autres animaux n'ont pas ce pouvoir hémolytique.

CONSERVATION DU POUVOIR HÉMOLYTIQUE. — Les streptocoques conservés en ampoules, suivant la technique exposée dans notre précédent mémoire (1), conservent non seulement leur vitalité pendant un temps assez long, douze à quatorze mois en moyenne, mais ils gardent aussi leurs propriétés hémolytiques.

Voici les résultats obtenus avec 4 souches d'origine différente, dont deux ne sont pas du streptocoque gourmeux :

Streptocoque gourmeux	{	pouvoir hémolytique à l'origine	1/1.000 ^e .
Bouchet 2	{	—	après huit mois 1/1.000 ^e .
Streptocoque gourmeux	{	pouvoir hémolytique à l'origine	1/500 ^e .
Carpano 50	{	—	après neuf mois 1/500 ^e .
Streptocoque humain	{	pouvoir hémolytique à l'origine	1 1.000 ^e .
otite Bouleau	{	—	après dix mois 1/1.000 ^e .
Streptocoque	{	pouvoir hémolytique à l'origine	1/500 ^e .
cobaye n° 46	{	—	après dix mois 1/500 ^e .

Virulence.

A. VIRULENCE AU SORTIR DE L'ORGANISME.

Les 35 souches que nous avons étudiées sont toutes, par définition, pathogènes pour le cheval. Leur origine est la suivante : 25 abcès sous-glossiens, 1 abcès parotidien, 1 liquide

(1) Ces *Annales*, 37, p. 1034.

pleural, 3 sangs du cœur, 1 hémoculture, 3 liquides céphalo-rachidiens, 1 abcès de l'intestin.

Nous avons étudié la virulence des souches sortant de l'organisme cheval sur les animaux de laboratoire ci-après : souris, rat blanc, cobaye, lapin.

1° SOURIS. — a) *Voie sous-cutanée* : Sur 35 échantillons, 4 seulement n'ont pas tué la souris blanche de 20 à 22 grammes à la dose maximum de $1/400^e$ de centimètre cube, par inoculation sous la peau. Nous n'avons pas fait d'essais au-dessus de cette dose, mais il est probable que ces 4 échantillons auraient tué à des doses plus fortes.

Donc 88,57 p. 100 des souches employées sont virulentes pour la souris au sortir de l'organisme, et cet animal justifie une fois de plus sa classification comme réactif de choix du streptocoque gourmeux.

La recherche de la dose minimum mortelle pour chacune des souches a donné les résultats suivants :

7 souches tuent à $1/400^e$ de cent. cube, soit 20 p. 100 des souches examinées.

16 souches tuent à $1/1.000^e$ de cent. cube, soit 45,71 p. 100 des souches examinées.

4 souches tuent à $1/2.000^e$ de cent. cube, soit 11,42 p. 100 des souches examinées.

3 souches tuent à $1/10.000^e$ de cent. cube, soit 8,57 p. 100 des souches examinées.

1 souche tue à $1/100.000^e$ de cent. cube, soit 2,85 p. 100 des souches examinées.

On peut donc dire que plus de la moitié des streptocoques gourmeux tuent la souris à la dose de $1/1.000^e$ de centimètre cube, et que les très fortes virulences pour cet animal sont exceptionnelles.

En ce qui concerne la survie, elle varie de un jour à trente-six jours. Cette durée de la survie n'a qu'un rapport assez lointain avec la dose injectée; c'est ainsi que nous avons vu un streptocoque tuer en un jour et demi à $1/10.000^e$ de centimètre cube, alors que, au $1/500^e$ de centimètre cube, aucun n'a tué en moins de quatre jours. Le facteur virulence joue donc, dans la brièveté du temps de survie, un rôle beaucoup plus important que celui de la dose. C'est d'ailleurs ce qui découle nettement des chiffres suivants :

Avec 1/400^e de cent. cube, 7 morts après survie de sept jours.

Avec 1/1.000^e de cent. cube, 16 morts après survie de neuf jours.

Avec 1/2.000^e de cent. cube, 4 morts après survie de onze jours.

Avec 1/10.000^e de cent. cube, 3 morts après survie de quatre jours et demi.

Avec 1/100.000^e de cent. cube, 1 mort après survie de trois jours et demi.

20 souches sur 31 tuent en moins de huit jours, la moyenne de l'incubation étant de quatre jours.

b) *Voie digestive* : Deux souris ont été soumises à une alimentation composée de pain humecté quotidiennement avec une culture de vingt-quatre heures, en bouillon, du streptocoque souche Serpette.

Les deux animaux étant malades, l'ingestion est arrêtée le 14^e jour et, le lendemain, les deux souris sont mortes.

Outre la cachexie très avancée, l'autopsie montre une hypertrophie de la rate chez les deux animaux; l'un présente un abcès du foie et l'autre un abcès volumineux de la paroi de l'intestin grêle. On trouve du streptocoque dans le foie et la rate, et la culture des deux sangs du cœur montre du streptocoque sous une forme bacillaire allongée.

Cette forme disparaît après deux cultures en bouillon sérum, et le streptocoque reprend sa forme habituelle.

2^e COBAYE. — Douze souches de streptocoques gourmeux ont été utilisées; la plupart ont été choisies parmi celles particulièrement virulentes pour la souris. Sept seulement ont tué le cobaye de 350 à 400 grammes. Nous avons injecté des cultures en bouillon Martin, additionné de sérum de cheval.

a) *Voie sous cutanée* : Les doses minima des souches qui tuent sous la peau sont :

Une souche tue à 1/2 cent. cube.

Une souche tue à 1 cent. cube.

Une souche tue à 2 cent. cubes.

Les quatre autres tuent à 3 et 4 cent. cubes.

b) *Voie péritonéale* : Il faut une dose beaucoup moins forte pour amener la mort; ainsi la souche Infutable, qui tue sous la peau à la dose de 2 cent. cubes, tue le cobaye de même poids à la dose de 0 c. c. 20; la souche Cathos (sang) qui ne tue pas sous la peau à la dose de 1 cent. cube, provoque, à la même dose, la mort en douze heures par la voie péritonéale;

la souche Serpette, qui tue le cobaye sous la peau à la dose minimum de 0 c. c. 5 en cinq jours, tue un animal de même poids en trois jours et demi avec 0 c. c. 10; la souche Terrible, qui tue sous la peau en un jour et demi avec 1 cent. cube, tue dans le même temps par le péritoine avec 0 c. c. 10; la souche Uranie, qui tue sous la peau avec 4 cent. cubes, tue dans le péritoine avec 0 c. c. 5.

c) *Voie veineuse* : Nous avons utilisé les souches : Infutable, Serpette, Uranie et Carpano 50, aux doses de 1/2 ou 1 cent. cube. Voici les résultats :

Souche Carpano résiste à 1 cent. cube.

— Uranie résiste à 1 cent. cube.

— Serpette mort en quatre jours et demi avec 0 c. c. 5.

— Infutable mort en vingt-quatre heures avec 0 c. c. 5.

Il semble donc que les injections dans les veines soient moins sévères que les injections intrapéritonéales.

d) *Voie intrapleurale* : Cette voie se place entre la voie péritonéale et la voie veineuse, au point de vue de la sensibilité à l'inoculation, ainsi que le montrent les résultats suivants :

Souche A. 1.109 résiste à 0 c. c. 25.

— Lastours résiste à 0 c. c. 25.

— Infutable mort en neuf jours avec 0 c. c. 25.

— Terrible mort en quatre jours et demi avec 0 c. c. 25.

— Serpette mort en un jour et demi avec 0 c. c. 25.

— Uranie mort en six jours avec 0 c. c. 50.

e) *Voie trachéale* : Trois cobayes de 500 grammes ont reçu dans la trachée des cultures de vingt-quatre heures en bouillon-sérum :

Souche Infutable, avec 0 c. c. 5, mort en trois jours; à l'autopsie, on trouve une pneumonie double, et le sang du cœur redonne une culture pure de streptocoque.

Souche Serpette, mort en deux jours avec 0 c. c. 5; mêmes lésions.

Souche Uranie, mort en huit jours avec 0 c. c. 5. Pas de pneumonie, mais le sang du cœur donne une culture pure de streptocoque.

Ces doses sont les doses minima mortelles, car, essayées à la dose de 0 c. c. 20 par la même voie, elles ne tuent pas des cobayes de même poids.

Il semble donc que la trachée soit une excellente voie d'épreuve pour la virulence du streptocoque gourmeux vis-à-vis du cobaye.

f) *Voie digestive* : Deux cobayes ont été soumis à l'ingestion journalière de pain humecté avec une culture de streptocoque de vingt-quatre heures en bouillon-sérum (souche Serpette); l'un est mort en trois jours, et l'ensemencement du sang du cœur a redonné le streptocoque; l'autre a résisté; l'ingestion a été arrêtée après quatorze jours.

Deux autres cobayes ont été soumis à l'ingestion journalière d'un demi-tube de culture en bouillon-sérum du streptocoque Serpette; l'un est mort après douze jours, ayant perdu 200 grammes de son poids et avec une paralysie des membres postérieurs dans les quarante-huit heures précédant la mort. L'autopsie a montré une pneumonie à gauche et de l'hypertrophie de la rate et des surrénales. Le streptocoque a été retrouvé dans le sang du cœur et dans les organes.

L'autre cobaye est mort après dix-huit jours, cachectique, avec une hypertrophie de la rate; ses organes contenaient du streptocoque.

g) *Voie cutanée* : Nous avons cherché la virulence du streptocoque injecté dans la peau.

1^{re} expérience : 6 cobayes d'un poids moyen de 450 grammes reçoivent dans la peau, en 3 à 6 points d'inoculation, 2 cent. cubes de culture en bouillon-sérum des souches suivantes :

Souche Serpette.	{	cobaye n° 25, mort après deux jours.
		cobaye n° 26, mort après trois jours.
Souche Infutable	{	cobaye n° 27, mort après trois jours.
		cobaye n° 28, mort après trois jours.
Souche Uranie	{	cobaye n° 29, survie (escarre au point
		d'inoculation).
		cobaye n° 30, mort après quatre jours.

Tous ces cobayes ont présenté, douze heures après l'incubation, un œdème chaud et douloureux aux divers points inoculés. Au moment de la mort, cet œdème était transformé en une large ecchymose violet foncé.

Trois cobayes témoins ont été inoculés sous la peau avec la même dose des mêmes cultures : tous les trois ont résisté.

2^e expérience : 6 cobayes reçoivent dans la peau 2 cent. cubes de culture :

Souche Serpette	{	n° 37 inoculé en 3 points, mort après un jour.
		n° 38 inoculé en 6 points, mort après un jour.
Souche Infutable	{	n° 39 inoculé en 3 points, mort après un jour.
		n° 40 inoculé en 4 points, mort après deux jours.
Souche Uranie	{	n° 41 inoculé en 7 points, mort après deux jours.
		n° 42 inoculé en 4 points, mort après deux jours.

Six cobayes témoins reçoivent les mêmes doses sous la peau :

Souche Serpette	{	n° 43 inoculé en 3 points, survie.
		n° 44 inoculé en 1 point, mort après quatre jours.
Souche Infutable	{	n° 45 inoculé en 4 points, survie.
		n° 46 inoculé en 1 point, survie.
Souche Uranie	{	n° 47 inoculé en 4 points, survie.
		n° 48 inoculé en 1 point, survie.

On obtient donc la mort beaucoup plus sûrement en inoculant le streptocoque dans la peau que sous la peau.

PARAPLÉGIE DU COBAYE CONSÉCUTIVE A L'INFECTION EXPÉRIMENTALE.

— Nous avons signalé un premier cas de paraplégie du cobaye, à la suite d'injections de streptocoque gourmeux (1). Un streptocoque, souche Infutable, n'ayant jamais fait de passage par un animal d'expérience autre que le cheval, inoculé sous la peau du cobaye à la dose de 2 cent. cubes (culture de vingt-quatre heures en bouillon-sérum), amenait, dix jours après l'inoculation, une paraplégie complète des membres postérieurs, motrice et sensitive, persistant environ dix jours, puis disparaissant ensuite.

Depuis cette époque, nous avons eu l'occasion d'observer d'autres cas de paraplégies du cobaye déterminées par le streptocoque. Au cours d'une épidémie de paraplégie infectieuse, nous avons pu isoler du liquide céphalo-rachidien du cheval Cathos, mort de cette affection, un streptocoque virulent pour le cobaye qui, inoculé sous la peau de cet animal à la dose de 1 cent. cube, a amené chez un cobaye de 430 grammes, au

(1) BROCC-ROUSSEU, FORGEOT et URBAIN, Paraplégie expérimentale, chez le cobaye, due au streptocoque gourmeux. *Bull. de la Soc. centrale de Médecine vétérinaire*, 28 février 1923, p. 78.

bout de vingt-quatre heures, une paralysie complète des membres postérieurs, avec abolition totale de la sensibilité. L'animal est mort après trente-six heures de streptococcie aiguë.

Plus récemment, au cours d'une infection du cobaye par voie digestive, nous avons vu survenir, après onze jours, une paraplégie complète des membres postérieurs, accompagnée de paralysie sensitive, qui a duré quarante-huit heures, jusqu'à la mort de l'animal. Ce cobaye avait perdu 190 grammes de son poids primitif, et avait des lésions de pneumonie et une hypertrophie de la rate et des surrénales.

Nous avons donc observé trois cas de paraplégie du cobaye, déterminés par trois souches différentes de streptocoques, dont deux sont des streptocoques gourmeux.

3° LAPIN. — Nous avons expérimenté 14 souches sur cet animal.

a) *Voie sous-cutanée* : Les souches les plus virulentes (Serpette et Uranie) tuent le lapin de 900 grammes, sous la peau, à la dose de 3 cent. cubes en vingt-quatre ou quarante-huit heures. Deux autres souches (Terrible et Infutable) tuent le lapin de même poids, à la dose de 5 cent. cubes en douze heures.

b) *Voie intrapleurale* : Avec une dose de 2 cent. cubes dans la plèvre, les souches Terrible, Serpette et Infutable, tuent le lapin de 1 kilogramme en vingt-quatre heures. La souche Uranie le tue avec la même dose en trente-six heures.

c) *Voie veineuse* : Sur 12 souches expérimentées par cette voie, 6 ont tué le lapin de 950 à 1.200 grammes dans des délais variant de un à huit jours et demi.

La culture employée est toujours une culture de vingt-quatre heures en bouillon sérum.

Souche Carpano 50, mort en trois jours et demi avec 0 c. c. 5.

— A. 4109, mort en un jour et demi avec 1 cent. cube.

— Fileuse, mort en un jour avec 1 cent. cube.

— Uranie, mort en huit jours et demi avec 0 c. c. 5.

— Terrible, mort en deux jours avec 0 c. c. 5.

— Uranus, mort en quatre jours et demi avec 0 c. c. 5.

d) *Voie trachéale* : Trois souches utilisées ont tué le lapin de 860 à 960 grammes dans les délais ci-après :

Souche Serpette, mort en trois jours avec 1 cent. cube.

— Uranie, mort en dix-huit heures avec 1 cent. cube.

— Infutable, mort en trois jours avec 1 cent. cube.

Le sang du cœur de ces 3 lapins a donné une culture pure de streptocoque.

e) *Voie intrapéritonéale* : Trois souches ont été injectées à des lapins d'un poids moyen de 850 grammes :

Souche Serpette, mort en vingt-quatre heures avec 0 c. c. 25.

— Infutable, mort en quarante-huit heures avec 0 c. c. 25.

— Uranie, mort en vingt-quatre heures avec 0 c. c. 25.

A l'autopsie, le streptocoque a été retrouvé dans le sang du cœur de tous les lapins.

f) *Voie digestive* : Deux lapins ont reçu quotidiennement, à la seringue, une culture de vingt-quatre heures en bouillon sérum de la souche Serpette; ils sont morts, l'un en trois jours, l'autre en huit jours. Le sang du cœur des deux animaux,ensemencé, a redonné du streptocoque en culture pure.

Un autre lapin a reçu, comme les précédents, des cultures de la souche Uranie. Il est mort en quatre jours, présentant à l'autopsie des lésions de pneumonie à droite, et une hypertrophie notable de la rate. Il existait du streptocoque dans le sang et dans les organes.

4° RAT BLANC. — a) *Voie sous-cutanée* : Sur 9 souches utilisées, 6 ont tué par cette voie.

Avec une culture de vingt-quatre heures en bouillon sérum, il faut en général, 1 cent. cube pour amener la mort d'un rat de 70 à 80 grammes, avec des survies variant de douze heures à vingt jours. Certains échantillons plus virulents tuent le rat avec 0 c. c. 50, 0 c. c. 25 et 0 c. c. 20 en un à trois jours. La dose de 0 c. c. 20 nous a paru être la dose minimum mortelle avec notre streptocoque gommeux le plus virulent.

b) *Voie intrapleurale* : L'infection par cette voie est plus sévère que par la voie sous-cutanée. Deux souches, R. F. et Carpano 50 qui ne tuent pas le rat sous la peau, le tuent en quelques heures par la voie pleurale. On tue facilement, par cette voie, le rat blanc de 100 à 135 grammes avec 0 c. c. 20 d'une émulsion dans 5 cent. cubes d'eau physiologique,

d'une culture de vingt-quatre heures sur gélose; la mort survient en neuf à douze heures. Les 8 souches essayées ont toutes tué le rat.

c) *Voie intraveineuse* : L'émulsion dont il vient d'être question sert à faire des injections dans la veine de la queue. La souche Serpette à 0 c.c. 20 et la souche Infutable à 0 c.c. 40 laissent les animaux indemnes : cette voie d'introduction ne paraît donc pas très favorable.

d) *Voie intrapéritonéale* : Une culture de vingt-quatre heures en bouillon sérum, injectée à la dose de 0 c.c. 25, a donné :

Souche Serpette, rat de 75 grammes, mort en deux jours.

— Infutable, rat de 80 grammes, résiste.

— Uranie, rat de 60 grammes, mort en quatre jours.

Les animaux morts ont montré du streptocoque dans les organes, et le sang du cœur,ensemencé, a redonné une culture pure du streptocoque.

e) *Voie trachéale* : L'injection de 0 c.c. 50 de culture de vingt-quatre heures en bouillon sérum donne :

Souche Serpette, rat de 150 grammes, mort en trente-six heures.

— Uranie, rat de 120 grammes, mort en vingt-quatre heures.

L'injection de 0 c.c. 20 d'émulsion en eau physiologique d'une culture sur gélose donne :

Souche Serpette, rat de 135 grammes, mort en deux jours.

— Uranie, rat de 150 grammes, mort en un jour.

L'injection de 0 c.c. 10 de la même émulsion donne :

Souche Serpette, rat de 120 grammes, survie.

— Uranie, rat de 120 grammes, mort en quatre jours.

— Infutable, rat de 100 grammes, mort en quatre jours.

L'injection intratrachéale semble être la méthode de choix pour faire l'épreuve de la virulence du streptocoque gourmeux sur le rat blanc.

f) *Voie digestive* : Deux rats de 170 grammes ont consommé quotidiennement, pendant quinze jours, du pain humecté avec un tube de culture, en bouillon sérum de streptocoque souche Serpette. Après ce temps, ils ont été remis à leur régime habituel. Au bout de vingt et un jours, soit six jours après la

cessation des repas infectants, un des rats est mort en complet état de cachexie.

L'autopsie a montré une rate hypertrophiée, et on y a trouvé, comme dans le foie, de nombreux streptocoques.

Le deuxième rat a succombé huit jours après le premier, soit au bout de trente-cinq jours. Comme le premier, il était cachectique, et on a trouvé du streptocoque dans les organes.

5° CHEVAL. — L'injection sous-cutanée de streptocoque gourmeux provoque, chez le cheval, un abcès local plus ou moins volumineux, avec ou sans hyperthermie. L'injection intraveineuse provoque, tout d'abord, chez le cheval sain, une hyperthermie très forte, assez durable.

Au cours de ses immunisations, Dassonville et de Wissocq (1) ont constaté que chez les chevaux, à la suite d'injections de cultures virulentes, dans la veine, et à d'assez faibles doses, on reproduit toutes les complications habituelles de la maladie naturelle : synovites, œdèmes chauds des membres, fourbures, anasarques, eczéma généralisé, méningite, pleurésie, pneumonie, etc... Nous avons eu, au laboratoire, au cours des immunisations pratiquées sur nos animaux, avec des cultures virulentes, un exemple typique d'infection.

Le cheval Infutable avait reçu, depuis le mois de décembre 1920, des injections veineuses de streptocoque alcool-éther, puis en septembre 1923, des injections de streptocoque chauffé, et à la seconde injection de streptocoque virulent, il fut pris de coliques, coïncidant avec une forte hyperthermie, en même temps qu'il avait des frissons et de la dyspnée. Il survécut six jours, et à son autopsie, on trouva une pneumonie généralisée, avec foie friable et rate hypertrophiée. Lesensemencements du sang du cœur et de la moelle osseuse d'un métacarpien nous ont donné du streptocoque dont la virulence s'était accrue par ce passage.

Nous avons eu un autre accident sur la jument Colandre, qui est morte quelques minutes après une injection virulente. Il s'est agi, en l'espèce, très probablement d'un accident d'hyper-sensibilité.

(1) DASSONVILLE et DE WISSOCQ, Première tentative de sérothérapie antigourmeuse. *Bulletin de la Société centrale de médecine vétérinaire*, 1905, p. 176.

B. VIRULENCE SUIVANT LES MILIEUX DE CULTURE.

1° MILIEUX AU SANG. — L'addition, au milieu de culture, de sang défibriné, provenant de l'espèce animale sur laquelle on opère, est-elle susceptible d'accroître, après quelques passages *in vitro*, la virulence du germe, pour l'espèce animale dont il s'agit ? Il semble bien qu'il en soit ainsi dans une certaine mesure, d'après les expériences suivantes :

Après trois repiquages successifs, à vingt-quatre heures d'intervalle, du streptocoque gourmeux (souche C. 50), en bouillon Martin, additionné de X gouttes de sang défibriné de cobaye, on constate que 1 cent. cube de la culture de vingt-quatre heures, obtenue par ensemencement du dernier passage en milieu bouillon sérum, tue un cobaye de 300 grammes en trois jours, par injection intrapéritonéale. La même dose, injectée par la même voie, à un cobaye de même poids, d'une culture obtenue de la même façon, mais avec du sang de cheval, le laisse indemne, comme la même dose d'une culture en bouillon sérum, privée de sang.

Nous avons pu, de cette façon, en continuant les passages par milieu sang de cobaye, tuer cet animal en trente-six heures avec le même germe et avec 0 c. c. 25 seulement de culture.

Nous avons répété cette expérience avec deux autres streptocoques, souche Uranus et Délicieuse, dans les mêmes conditions que ci-dessus ; le témoin recevant une culture en bouillon sérum privée de sang.

Souche Uranus :

Après 6 passages, cobayes de 515 grammes, 3 cent. cubes, mort en vingt heures.

Témoin, cobaye de 510 grammes, 3 cent. cubes, mort en trois jours et demi.

Souche Délicieuse :

Après 6 passages, cobaye de 395 grammes, 3 cent. cubes, mort en vingt heures.

Témoin, cobaye de 380 grammes, 3 cent. cubes, mort en quatorze jours.

Nous avons fait une expérience analogue sur le pigeon, animal qui passe pour être peu sensible au streptocoque. Les conditions sont les mêmes que précédemment, et les injections sont faites dans la veine.

Pigeon 1, après 4 passages, 0 c. c. 50, meurt en vingt-quatre heures.

Pigeon 2, témoin, 0 c. c. 50, résiste.

Si l'on peut accroître la virulence, dans une certaine mesure, par ce procédé, il est indispensable de partir d'un streptocoque déjà doué de pouvoir pathogène. Les mêmes expériences que ci-dessus, faites avec un germe n'ayant aucun pouvoir pathogène, ne permettent pas de lui faire acquérir une virulence appréciable pour l'animal dont le sang est ajouté aux cultures. D'autre part, si nous avons relaté des résultats positifs, pour le cobaye et le pigeon, nous n'avons obtenu rien de semblable pour le lapin, ainsi que le montrent les exemples suivants :

Souche C. 50.

Après 10 passages, 1 cent. cube, in veine, lapin de 1.100 grammes, résiste.

Témoin, 1 cent. cube, in veine, lapin de 1.055 grammes, meurt en un jour et demi.

Souche Uranus.

Après 10 passages, 1 cent. cube, in veine, lapin de 1.500 grammes, meurt en deux jours.

Témoin, 1 cent. cube, in veine, lapin de 790 grammes, meurt en quatre jours.

Souche 1409.

Après 12 passages, 1 cent. cube, in veine, lapin de 750 grammes, résiste.

Témoin, 1 cent. cube, in veine, lapin de 670 grammes, meurt en un jour et demi.

2° MILIEUX ACIDES OU NEUTRES. — Pour la plupart des auteurs, la disparition rapide de la virulence dans les cultures de streptocoques est due à l'acidité formée par ce microbe, en se développant. Pour vérifier l'influence de ce facteur, nous avons ensemencé parallèlement un certain nombre de tubes de bouillon sérum ordinaire, et un nombre égal de tubes de bouillon sérum additionné de carbonate de chaux. Nous avons recherché chez la souris les modifications apportées à la virulence.

Souche 1.	{	1/20 ^e de goutte de culture en bouillon sérum ordinaire tue la souris en deux jours et demi. 1/20 ^e de goutte de culture en bouillon sérum carbonaté tue la souris en quatre jours.
-----------	---	--

Souche 2. .	{	1/20 ^e de goutte de culture en bouillon sérum ordinaire tue la souris en quatre jours.
		1/20 ^e de goutte de culture en bouillon sérum carbonaté tue la souris en deux jours.
Souche 3. .	{	1/20 ^e de goutte de culture en bouillon sérum ordinaire tue la souris en quinze jours.
		1/20 ^e de goutte de culture en bouillon sérum carbonaté tue la souris en quinze jours.

On voit donc que la neutralisation de l'acide au fur et à mesure de sa production, par le carbonate de chaux, ne paraît pas modifier le facteur virulence.

3° MILIEUX AÉROBIES OU ANAÉROBIES. — Le streptocoque gourmeux cultivant à l'abri de l'air acquiert-il une virulence plus grande? Nous avons pris, d'une part, une souche qui tue normalement le cobaye à la dose de 3 cent. cubes; et une souche avirulente, pour voir si l'anaérobiose la rendait virulente. Les deux souches ont été semées parallèlement en aérobie et en anaérobiose, et l'épreuve a été faite après vingt-quatre heures :

3 cent. cubes sous la peau du cobaye, streptocoque virulent, aérobie, mort en vingt-quatre heures.

3 cent. cubes sous la peau du cobaye, streptocoque virulent, anaérobiose, résiste.

3 cent. cubes sous la peau du cobaye, streptocoque avirulent, aérobie, résiste.

3 cent. cubes sous la peau du cobaye, streptocoque avirulent, anaérobiose, résiste.

Nous avons réensemencé chaque jour deux tubes, pour continuer les passages aérobies et anaérobies, et après le cinquième passage, nous avons réinoculé les deux souches du streptocoque virulent :

3 cent. cubes streptocoque virulent, aérobie, mort en deux jours et demi.

3 cent. cubes streptocoque virulent anaérobiose, mort en un jour et demi.

Après le onzième ensemencement :

3 cent. cubes streptocoque virulent aérobie, mort en un jour et demi.

3 cent. cubes streptocoque virulent anaérobiose, résiste.

On voit donc que, en ce qui concerne le streptocoque virulent, il n'y a aucun changement dans sa virulence, du fait de

son passage en aérobie ; il semblerait plutôt qu'il y a un léger affaiblissement.

Nous avons pris deux streptocoques non virulents, et après 10 passages en anaérobies, nous les avons injectés :

a) Souche Sophie, ne tue pas le cobaye avec 2 cent. cubes de culture de vingt-quatre heures en bouillon sérum, par injection sous-cutanée ; après 10 passages journaliers en anaérobie, un cobaye de 380 grammes reçoit 2 cent. cubes de la culture : il résiste.

b) Souche B. H. 542, ne tue pas la souris, en injection sous-cutanée, à la dose de $1/400^e$ de cent. cube ; après 10 passages en anaérobie, la virulence de la même dose de culture n'a pas changé : la souris résiste.

Le passage en anaérobie ne semble donc pas modifier la virulence.

4° MILIEUX BOUILLON BŒUF ET BOUILLON CHEVAL. — L'abondance des cultures en bouillon fait avec de la viande de cheval nous a incités à rechercher si ce milieu était favorable à l'augmentation de la virulence.

Nos expériences ont porté sur 5 souches, et aucune différence notable n'a été observée entre le bouillon bœuf et le bouillon cheval, injecté sous la peau de la souris.

Souche 1409. . . .	{	$1/500^e$ de cent. cube, bouillon bœuf, mort en quatre jours et demi.
		$1/500^e$ de cent. cube, bouillon cheval, mort en six jours.
		$1/1.000^e$ de cent. cube, bouillon bœuf, mort en six jours et demi.
		$1/1.000^e$ de cent. cube, bouillon cheval, mort en un jour et demi.
Souche EH 1549. . .	{	$1/500^e$ de cent. cube, bouillon bœuf, mort en vingt jours et demi.
		$1/500^e$ de cent. cube, bouillon cheval, mort en dix-huit jours.
Souche EH 1470 . . .	{	$1/500^e$ de cent. cube, bouillon bœuf, mort en sept jours et demi.
		$1/500^e$ de cent. cube, bouillon cheval, mort en six jours et demi.
Souche SL 1539. . .	{	$1/500^e$ de cent. cube, bouillon bœuf, mort en quatre jours et demi.
		$1/500^e$ de cent. cube, bouillon cheval, mort en quatre jours et demi.

Souche SV 1380 . .	{	1/500 ^e de cent. cube, bouillon bœuf, mort en douze heures.
		1/500 ^e de cent. cube, bouillon cheval, mort en dix jours et demi (souris grise).

C. TENTATIVES POUR REMONTER LA VIRULENCE *in vivo*.

Marmorek (1) a pu assez facilement, par passages chez le lapin injecté dans la veine, remonter la virulence du streptocoque humain. Dès que l'animal est mort, il ensemence le sang du cœur dans un tube de bouillon sérum humain; après un séjour de quarante-huit heures à l'étuve, il inocule un deuxième lapin; la culture du sang du cœur de ce deuxième lapin sert à inoculer un troisième, et ainsi de suite. Il arrive à obtenir une culture qui tue le lapin au cent-milliardième de cent. cube. Cette dose diluée dans 1 cent. cube de bouillon et injectée dans le péritoine d'un lapin, amène la mort en trente heures, par septicémie, alors que le même streptocoque avant passage ne tuait le lapin en trois jours qu'avec 1 cent. cube injecté dans la veine.

En ce qui concerne le streptocoque gourmeux, des constatations du même ordre ont été faites par différents auteurs; pourtant, cette méthode classique pour exalter l'activité des germes s'est trouvée plusieurs fois en défaut entre nos mains, aussi bien sur le lapin que sur le cobaye et la souris. En voici quelques exemples :

Lapin (injection veineuse).

Souche C 50	{	Premier passage, 1 cent. cube, tue en trois jours et demi.
		Deuxième passage, 1 cent. cube, tue en cinq jours et demi.
Souche 1109	{	Premier passage, 1 cent. cube, tue en un jour et demi.
		Deuxième passage, 1 cent. cube, résiste (2 cent. cubes in plèvre, résiste).
Souche Fileuse. . .	{	Premier passage, 1 cent. cube, tue en un jour.
		Deuxième passage, 1 cent. cube, résiste.

(1) MARMOREK, Streptocoque et sérum antistreptococcique. Ces *Annales*, 9, 1895, p. 597.

Souris (injection sous-cutanée).

- Souche A. 1109. . . { Premier passage, 1/10^e de goutte, tue en deux jours.
 Deuxième passage, 1/10^e de goutte, tue en vingt et un jours.
- Souche Fileuse . . { Premier passage, 1/10^e de goutte, tue en deux jours.
 Deuxième passage, 1/10^e de goutte, tue en dix-neuf jours.
- Souche Terrible . . { Premier passage, 1/10.000^e de cent. cube, tue en un jour et demi.
 Deuxième passage, 1/10.000^e de cent. cube, tue en vingt-trois jours.

Cobaye (injection péritonéale).

- Souche Serpette . . { Premier passage, 0 c. c. 5, meurt en dix-neuf heures.
 Deuxième passage, 0 c. c. 25, meurt en un jour et demi.
 Troisième passage, 0 c. c. 20, résiste.
- Souche Délicieuse . { Premier passage, 2 cent. cubes, meurt en douze heures.
 Deuxième passage, liquide péritonéal, résiste.
- Souche Terrible . . { Premier passage, 0 c. c. 50, meurt en six jours.
 Deuxième passage, 0 c. c. 50, meurt en un jour.
 Troisième passage, 0 c. c. 25, meurt en quatre jours.
 Quatrième passage, 0 c. c. 20, meurt en un jour et demi.
 Cinquième passage, 0 c. c. 40, meurt en un jour et demi.
 Sixième passage, 0 c. c. 40, résiste.

Enfin, le streptocoque souche Infutable, qui tuait un cobaye de 350 grammes, sous la peau, avant passage, avec 2 cent. cubes de culture, a conservé exactement la même virulence après 22 passages sur le même animal. Le seul résultat appréciable des passages *in vivo* de cette souche a été de maintenir la virulence qui s'affaiblit sensiblement par les cultures. Nous n'avons pas, du reste, cherché à obtenir par passages *in vivo* un streptocoque gourmeux hypervirulent, car, à la suite des constatations que nous avons faites antérieurement (1), la question n'a aucun intérêt pour nous, puisque les passages font perdre au streptocoque gourmeux ses caractères d'origine, et le transforment en un streptocoque adapté à l'espèce sur laquelle se font les passages.

(1) BROCC-ROUSSEU, FORGEOT et URBAIN, Etude sur le streptocoque gourmeux (2^e mémoire). Ces *Annales*, 37, mars 1923, p. 322.

Le seul passage qui offrirait de l'intérêt pour nous serait le passage par cheval. On conçoit que cette expérience soit irréalisable dans la pratique.

Cependant, nous avons pu avoir une notion très précise de l'augmentation de virulence par un passage chez le cheval, en reprenant le streptocoque qui avait tué le cheval Infutable.

Ce streptocoque était la souche C. 50. Avant l'injection au cheval, elle se conduisait ainsi au point de vue de la virulence :

Cobaye 1.350 grammes, reçoit 4 cent. cubes de culture de vingt-quatre heures sous la peau, résiste.

Cobaye 2 350 grammes, reçoit 1 cent. cube de culture de vingt-quatre heures dans le péritoine, résiste.

Après la mort d'Infutable, le streptocoque se conduit ainsi :

Cobaye, 360 grammes, 2 cent. cubes sous la peau, meurt en douze heures.

Cobaye, 355 grammes; 0 c. c. 20 dans le péritoine, meurt en deux jours.

On voit donc que la virulence a augmenté dans des proportions très appréciables.

D. CONSERVATION DE LA VIRULENCE.

1° EN AMPOULES SCELLÉES. — La mise en ampoules scellées, de cultures de vingt-quatre heures, de streptocoques gourmeux, en bouillon sérum, semble être le meilleur moyen de conserver la virulence. Le bouillon Martin, additionné de sang de cheval défibriné, semble encore préférable au bouillon sérum. Cependant, la virulence s'atténue en général assez rapidement, quelque effort qu'on fasse pour le conserver.

Nous venons de voir que si les passages *in vivo* n'augmentent pas la virulence, pourtant, celle-ci se conserve mieux ainsi que par les cultures.

Nous pouvons en donner un autre exemple : avec un seizième passage sur cobaye le streptocoque tuait le cobaye au début, avec 3 cent. cubes; et au seizième passage, il tuait avec la même dose.

Nous conservons nos streptocoques en ampoules, et après un ou deux mois, les ampoules sont ouvertes, semées en bouillon sérum et mises à l'étuve pendant vingt-quatre heures, elles

sont ensuite, de nouveau, mises en ampoules. Cette pratique a pour but d'assurer la vitalité des cultures que nous sommes obligés d'entretenir pour nos besoins. Cependant, nous avons des exemples où la conservation de la virulence a été parfaite, dans des ampoules scellées, sans y avoir touché, pendant un temps assez long :

Streptocoque Bouchet 2, tuait, au début, la souris avec 1/400^e de cent. cube ; après neuf mois, en ampoule, tue à la même dose.

Souche Carpano 30, tuait la souris, au début, avec 1/1.000^e de cent. cube après neuf mois, en ampoule, tue à la même dose.

Il en est de même pour les deux streptocoques suivants non gourmeux :

Souche cobaye, tuait le cobaye, au début, avec 3 cent. cubes ; après dix mois, en ampoule, tue à la même dose.

Souche otite, Bouleau (homme), tuait la souris, au début, avec 1/10^e de cent. cube ; après dix mois, en ampoule, tue à la même dose.

On voit donc que ce procédé peut être recommandé comme donnant de bons résultats ; nous serions tentés de dire les moins mauvais, car il est certain que l'étude du streptocoque gourmeux est rendue très difficile du fait que nous ne savons pas conserver à ce germe une virulence fixe.

2° DANS LA GÉLATINE A L'EAU PHYSIOLOGIQUE. — Nous avons utilisé les trois souches suivantes : Terrible, Serpette et Infutable, qui, au moment de leur incorporation à la gélatine, tuaient le cobaye sous la peau, en dix-huit à vingt-quatre heures, aux doses de 2 à 3 cent. cubes. Les essais ont été faits après quatre mois de conservation, en tubes scellés, dans une pièce non chauffée, c'est-à-dire entre 0 et 3 à 4°.

Au moment de l'emploi, on chauffe le tube de gélatine au bain-marie à 37°, pour fluidifier la culture, et on fait un prélèvement que l'on sème en bouillon sérum ; on se sert de la culture le lendemain.

Deux souches, Serpette et Terrible, ont tué le cobaye dans les mêmes conditions qu'au moment de leur mise en gélatine. Avec la troisième souche, nous avons eu un volumineux œdème suivi d'escarre, et une perte de poids de 110 grammes, mais le cobaye a résisté.

Il semble donc bien que ce mode de conservation doive être conseillé, au point de vue de la virulence (1).

Toxicité.

Nous avons recherché la toxicité des bouillons de culture (exotoxines), et des corps microbiens tués par l'alcool-éther (endotoxines).

a) EXOTOXINE. — Les filtrats sur bougie Chamberland F, de cultures en bouillon sérum, âgées de trois, cinq, sept et douze jours, de nos souches les plus pathogènes pour le cobaye, se sont montrées inactifs pour le cobaye éprouvé sous la peau ou dans la veine.

Nous avons essayé aussi le filtrat de cultures sur gélose, âgées de vingt-quatre heures, additionnées d'eau physiologique; ce filtrat s'est montré inactif aussi bien sur le cobaye que sur la souris.

Les liquides clairs provenant de la centrifugation de cultures âgées de six à huit jours ont été essayés sur le lapin et le cobaye, sous la peau ou dans la veine, avec un résultat négatif. Une seule souche a tué le cobaye dans ces conditions, avec 1 cent. cube de liquide dans la veine, en un jour et demi; le sang du cœur n'a pas donné de culture de streptocoque. Il semblerait donc que, dans ce cas, la mort ait été due à une toxine; mais la méthode employée est tellement sujette à des critiques, que nous ne pouvons pas faire état de ce résultat positif. En un mot, toutes nos tentatives pour mettre une toxine en évidence, dans les cultures, ont échoué.

Il existe cependant un phénomène toxique que nous avons décrit à propos des paraplégies expérimentales du cobaye. Par l'injection de 2 cent. cubes sous la peau d'une culture de vingt-quatre heures en bouillon d'un streptocoque hypervirulent pour cet animal, on avait fait apparaître, après deux jours, au point d'injection, une tache rouge-violacée du tégument, de

(1) Dans le même milieu, nous avons conservé la vitalité du streptocoque, pendant cinq mois, avec les souches E H 1549, Ussel, E H 1539; mais il est vraisemblable que la survie doit être beaucoup plus longue. Avec le pneumocoque, Cotoni, Truche et Raphael ont vu qu'un repiquage annuel était suffisant pour assurer la conservation.

dimension variable. Au niveau de cette tache, la peau, d'abord infiltrée, devient sèche, puis se transforme en une escarre noirâtre après trois ou quatre jours. Cette escarre s'élimine lentement, en trois semaines environ, laissant à nu une surface ulcéreuse. Ce que nous savons des toxines nous autorise à penser que la production de cette escarre est la signature d'une toxine du streptocoque, sans que nous ayons réussi à la mettre en évidence d'une autre manière. Nos échecs ne doivent pas empêcher de chercher à nouveau dans cette voie; il suffira sans doute de trouver le milieu convenable, ou les conditions de milieu qui permettront à cette toxine de diffuser dans la culture.

b) ENDOTOXINE. — Lorsqu'on injecte au cheval des corps microbiens tués par l'alcool-éther, il se produit le plus souvent, après l'injection intraveineuse, une hyperthermie atteignant ou dépassant 40°, dans les heures qui suivent l'injection; on observe, en outre, des symptômes de coliques, de l'accélération de la respiration allant jusqu'à la dyspnée, des tremblements musculaires, de l'agitation qui porte l'animal à gratter le sol, à se coucher et à s'allonger en décubitus latéral complet pendant une demi-heure et plus.

Ces symptômes peuvent s'observer avec une dose de 1 centigramme de corps microbiens dilués dans 150 cent. cubes d'eau physiologique. Il y a donc une action toxique atténuée, mais très nette, après l'introduction dans l'organisme de ces streptocoques tués par cette méthode.

On note de grandes différences de réactions, dès une première injection, suivant les animaux; certains ont des réactions très accusées avec 1/4 de centigramme, alors que d'autres supportent 1 centigramme, sans réaction notable.

Nous reviendrons sur ces phénomènes lorsque nous traiterons de l'immunisation des animaux par ce procédé.

L'injection sous-cutanée, au cheval, d'une émulsion de ces corps microbiens, à la dose de 5 centigrammes dans 40 cent. cubes d'eau physiologique, détermine l'apparition d'un empâtement dur, ayant les dimensions d'un œuf de pigeon, qui se résorbe en une semaine, sans donner lieu à aucune réaction générale appréciable, et sans produire de lésion locale.

Le cobaye est beaucoup moins sensible que le cheval à ces injections.

Dans la veine, deux cobayes de 400 et 450 grammes reçoivent 1 centigramme de streptocoque tué par l'alcool-éther, provenant l'un d'une culture en bouillon sérum, l'autre d'une culture en bouillon Martin additionné de sang. Immédiatement après l'injection, il y a un peu de difficulté de la respiration, l'animal se frotte le nez, mais il se remet rapidement.

Un jeune cobaye de 260 grammes reçoit un mélange de poudres alcool-éther provenant de deux souches différentes; il a, pendant trois quarts d'heure, des symptômes assez violents et se remet; cependant, il meurt après sept jours et demi, et son sang ne contient pas de streptocoques.

Sous la peau, 1 centigramme de poudre alcool-éther donne, dès le lendemain, un empâtement dur ayant le volume d'un œuf de pigeon; puis apparaît, sur le tégument, une tache brune de la grosseur d'un pois, qui atteint plus tard la grosseur d'une pièce de 50 centimes; une croûte se forme, qui s'élimine, et tout rentre dans l'ordre. Cependant l'animal perd 72 grammes.

Avec une dose de 10 centigrammes, il se forme une tuméfaction dure, ayant les dimensions d'un œuf de pigeon, puis une tache brune; la lésion aboutit finalement à un abcès et l'animal perd 144 grammes de son poids.

La souris ne paraît pas non plus très sensible à ces injections de microbes tués par l'alcool-éther. Toutes les souris auxquelles nous avons injecté 1 centigramme sous la peau n'ont rien présenté; nous avons été jusqu'à 2 centigr. 5, sans produire aucun symptôme.

c) TOXICITÉ DES AUTOLYSATS. — Les différents essais de mise en évidence d'une toxine soluble dans les bouillons de culture ayant été négatifs, nous avons tenté de faire autolyser le streptocoque soit dans l'eau distillée, soit dans l'eau physiologique (neutres toutes les deux), pensant que nous pourrions peut-être trouver une substance toxique dans le liquide d'autolyse.

Nous prenons les culots de 2 ou 3 cultures en bouillon sérum, âgées de quarante-huit heures, et nous les plaçons dans 10 cent. cubes d'eau physiologique ou distillée. On met à l'étuve

à 37° et, tous les deux jours, on prend de quoi faire un ensemencement en bouillon sérum.

Dans l'eau physiologique à 7 p. 1.000, après vingt-cinq et trente jours, on n'a plus de culture en bouillon sérum, avec deux souches. Dans l'eau distillée, deux souches ne poussent plus après huit et vingt-quatre jours et, avec deux autres, on obtient des cultures après trente-cinq et cinquante jours.

Il ne paraît donc pas possible de dire qu'on peut obtenir une autolyse du streptocoque; cela est d'autant plus vrai que, dans le cas de l'eau physiologique, si on enlève le liquide clair et qu'on ajoute du bouillon au culot microbien, on peut encore avoir une culture une fois sur trois, alors que, par l'ensemencement du liquide clair, on ne peut plus en obtenir.

Si on examine les émulsions, on voit que le streptocoque n'a pas été modifié dans sa morphologie, et qu'il continue à prendre le Gram; dans les deux cas il conserve même son pouvoir pathogène: une goutte de la souche Terrible, après quinze jours de séjour dans l'eau distillée, tue la souris.

Cela confirme ce qui a été dit par Bory (1), à savoir « qu'il est à peu près impossible de caractériser morphologiquement les troubles apportés à l'équilibre osmotique des bactéries, par leur transport dans une solution salée hypotonique, ou même dans l'eau distillée ».

Nous avons cherché aussi s'il existait une toxine active dans le liquide clair obtenu après le dépôt de l'émulsion lorsque l'on n'obtient plus de culture en bouillon sérum.

Des injections de 0 c. c. 5 de ce liquide, dans la veine du cobaye, ne nous ont donné que des troubles passagers durant de vingt à vingt-cinq minutes; les animaux perdent du poids, environ 700 grammes; et l'un d'eux est mort après cinq jours, ayant perdu 430 grammes et présenté une alopécie de la face ventrale.

Nous avons aussi broyé à l'agitateur électrique les culots de centrifugation de nos cultures les plus virulentes; ils se sont montrés inactifs même à la dose de 1 cent. cube dans la veine du cobaye.

*(Institut Pasteur et Laboratoire militaire
de recherches vétérinaires.)*

(1) LOUIS BORY. *Les phénomènes de destruction cellulaire*, p. 49, Masson, 1922.

**VALEUR DE LA FLOCCULATION
COMPARÉE AUX AUTRES MÉTHODES SÉROLOGIQUES
POUR LE DIAGNOSTIC ET LE PRONOSTIC
DE LA SYPHILIS**

par R. DEMANCHE et L. GUENOT.

La Sérologie prend une importance de plus en plus considérable en Syphiligraphie, ainsi qu'en témoigne le grand nombre de travaux qu'elle a suscités depuis quelques années. Ceux-ci ont avant tout pour but de simplifier et d'unifier les méthodes de séro-diagnostic de la syphilis et aussi d'y introduire une notion de mesure qu'on espère étendre ensuite à l'infection syphilitique elle-même. C'est ainsi qu'à côté de la réaction de Bordet-Wassermann et de ses multiples variantes, sont nées les méthodes de flocculation directe qui reposent sur la précipitation des granulations colloïdales du sérum des syphilitiques par un réactif de composition fixe; la mesure de cette précipitation permet de déterminer l'intensité de la réaction.

Parmi les nombreuses méthodes fondées sur ce principe, une des plus répandues en France est celle du Dr Vernes, caractérisée par la mesure pondérale de la flocculation. Par la séduisante rigueur de sa technique, par la valeur sociale qu'on lui a attribuée pour la lutte antisiphilitique, elle a rapidement acquis une grande notoriété. Mais en dehors de l'Institut prophylactique et de ses filiales où elle est appliquée sous la direction de son auteur, elle n'a pas fait jusqu'ici (1) l'objet de recherches systématiques de contrôle (décembre 1923). C'est pourquoi il nous a paru intéressant de faire connaître les

(1) Pendant que ce mémoire était en cours d'impression, MM. Gastou et Béthouse ont fait à la *Société française de dermatologie et de syphiligraphie* (séance du 14 février et du 13 mars 1924) de fort intéressantes communications sur le même sujet; leurs conclusions concordent sensiblement avec les nôtres.

résultats de l'enquête à laquelle nous nous livrons depuis un an, à l'hôpital Cochin, dans le service de notre maître, M. L. Fournier, sur la valeur de cette méthode.

Le présent travail porte sur l'étude détaillée des 500 premiers sérums examinés. Depuis nous avons fait, toujours comparativement avec les autres procédés, plus de 2.000 floculations qui n'entrent pas dans les pourcentages que nous exposerons tout à l'heure, mais qui confirment nos conclusions générales. Nous avons comparé les résultats de la floculation avec ceux des autres méthodes de séro-diagnostic, principalement avec ceux de la réaction de Hecht qu'avec nombre de sérologistes nous considérons comme la plus sensible, et, avant tout, nous les avons confrontés avec l'examen clinique. Nous examinerons d'abord ces résultats, considérés isolément, chez les malades aux différentes périodes de la syphilis et, par mesure de contrôle, chez des sujets indemnes de syphilis. Nombre de ces malades ayant pu en outre faire l'objet d'examens en série, nous étudierons ensuite comparativement les courbes fournies chez eux par la floculation et par les méthodes classiques, suivant l'évolution de leur infection, sous l'influence du traitement principalement.

*
* *

Nous avons pratiqué les séro-réactions de Wassermann, de Calmette et de Hecht, selon la technique classique en nous servant chaque fois de plusieurs antigènes (foie d'hérédé et cœur de bœuf). La réaction de Hecht était faite avec une dose constante de sérum frais du malade (alexine fixe) et 3 doses variables d'antigène et après vérification du pouvoir hémolytique du sérum. Nous distinguerons simplement les résultats obtenus en positifs (+++), positifs partiels (+++, ++, ++, +, +) et négatifs (0).

Quant à la réaction de floculation, laissant volontairement de côté toute étude théorique sur son mécanisme et toute discussion de priorité sur son invention et son emploi, nous l'avons prise telle qu'elle est pratiquée à l'Institut prophylactique, et nous l'appellerons pour la commodité « *Réaction de Vernes* ». Nous nous sommes servi de l'instrumentation spé-

cial et du réactif précipitant (Péréthynol) de M. Vernes et nous avons suivi exactement la technique qu'il a décrite en 1921 (1) et qu'il a eu d'ailleurs l'obligeance de nous démontrer.

Cette technique est minutieusement réglée. En voici le résumé. Le Péréthynol est dilué pour l'usage de la façon suivante : dans un verre cylindrique à fond plat contenant 12 cent. cubes d'eau bidistillée, plonger une hélice en verre de 35 millimètres de diamètre tournant à 200 tours à la minute et ajouter 6 cent. cubes de Péréthynol au moyen d'une pipette réglée de telle sorte que l'écoulement se fasse en 6 minutes; verser enfin en filet mince 24 cent. cubes d'eau bidistillée; toute cette opération doit s'effectuer à une température comprise entre $+ 18^{\circ}$ et $+ 25^{\circ}$ centigrades. On obtient ainsi une émulsion dont les grains ont un volume constant; elle doit être utilisée dans les deux heures qui suivent sa préparation. Elle est mélangée au sérum du malade préalablement centrifugé, car il ne doit pas contenir trace de globules, et chauffé pendant 1/2 heure à $+ 55^{\circ}$, à raison de 0 c. c. 4 pour 0 c. c. 8 de sérum. Avec chaque sérum, on prépare en outre un tube témoin dans lequel le réactif précipitant est remplacé par 0 c. c. 4 d'eau bidistillée additionnée d'alcool absolu dans la proportion de 2 cent. cubes d'alcool pour 11 cent. cubes d'eau. Ces distributions se font facilement et rapidement au moyen de 2 rhéomètres gradués. Les tubes ainsi préparés sont placés pendant 4 heures dans une étuve à $+ 25^{\circ}$. La floculation se manifeste par un trouble perceptible le plus souvent à l'œil nu et que l'on mesure par un photomètre extrêmement précis, dans lequel le rayon lumineux transmis par le liquide à examiner se projette sur une plage centrale encadrée de deux plages latérales avec lesquelles on rétablit facilement l'égalité de teintes au moyen d'un coin photométrique. Les déplacements de ce coin sont indiqués par un vernier gradué de telle sorte que chacune de ses divisions correspond à 0 milligr. 01 de précipité. On répète la même opération avec le tube témoin et la différence entre les deux chiffres lus sur le

(1) ARTHUR VERNES, Mesure pondérale de la floculation par la photométrie. *La Presse Médicale*, 3 décembre 1921. — *Id.*, L'organisation de la syphilimétrie, Paris, Maloine, 1923.

vernier donne directement, suivant la correspondance établie par MM. Bricq et Vernes entre les poids de précipité en suspension et les absorptions lumineuses, le degré de floculation exprimée en centièmes de milligramme, ceux-ci étant l'unité de mesure de la floculation.

Cet exposé succinct et aride donnerait à penser qu'il s'agit là d'une technique excessivement compliquée. Cette complication n'est qu'apparente; en réalité, grâce à une instrumentation ingénieuse, la mesure de la floculation est facile à exécuter, plus simple même que le W.-R. (il n'est besoin ni de titrages préalables, ni de sérum hémolytique, ni d'hématies de mouton) et plus rapide, surtout lorsqu'on a à examiner en série un grand nombre de sérums. La lecture des résultats est précise : on arrive sans peine à obtenir l'égalité de teinte des plages lumineuses avec des écarts de 3 divisions au plus entre différents observateurs. De plus, cette technique paraît, au moins *a priori*, séduisante par sa rigueur, toutes les circonstances de l'expérience étant nettement déterminées, constantes et indépendantes de l'observateur; de fait, nous avons obtenu des résultats concordant avec ceux de l'Institut prophylactique chaque fois qu'un même sérum était examiné par les deux laboratoires. Toutefois, il importe de pratiquer toujours les examens sur des sérums frais ou tout au moins préservés de l'évaporation; un sérum abandonné sans précautions au laboratoire nous a donné en général une floculation beaucoup plus abondante au bout de quatre à six jours que le premier jour. Enfin, la recherche de la floculation offre l'avantage précieux de donner un résultat pour tous les sérums, même pour les plus fortement anticomplémentaires avec lesquels il est impossible de pratiquer le W.-R. et à plus forte raison le Hecht.

Quant à l'interprétation des résultats, nous nous en référons au texte de M. Vernes : « Un sérum normal, non syphilitique, ne donne pas de précipité et on trouve à la lecture 0. Toutefois, il faut savoir que certains sérums, bien que non syphilitiques, peuvent présenter une floculabilité très légère. Au-dessous de 15, la différenciation entre un sérum normal et un sérum syphilitique ne peut se faire que par la comparaison des résultats de deux examens consécutifs donnant un tracé ascendant ou descendant : un sérum normal donne un plateau,

un sérum syphilitique une courbe oscillante (1). » Ainsi, à moins d'examens répétés qui souvent ne peuvent être pratiqués soit que le malade ne s'y prête pas, soit que l'urgence du traitement ne permette pas de les attendre, on n'est en droit d'affirmer la syphilis, c'est-à-dire de considérer le séro-diagnostic comme positif, que lorsqu'on trouve un poids de précipité égal ou supérieur à 15 ; la zone de positivité est d'ailleurs très étendue, au delà de 100 d'après Vernes, jusqu'à 155 d'après une [de nos observations. Pour ce qui est des sérums contenant moins de 15 de précipité, Vernes déclare que son ancien procédé colorimétrique de mesure de la floculation « ne donnait qu'une bande d'absorption comprise entre les degrés 7 et 8 » de l'échelle pondérale actuelle, la teinte 8, sur laquelle il avait fondé son critérium de 8 mois, correspondant au degré 8 ; il reconnaît d'autre part que des sérums normaux peuvent donner une légère floculation. Nous croyons donc pouvoir qualifier de négatifs les sérums contenant un poids de précipité inférieur à 7, et de positifs partiels ceux qui en contiennent de 7 à 14, sans nous dissimuler qu'il est difficile d'établir une équivalence exacte entre les résultats de la floculation et ceux des autres méthodes de séro-diagnostic (2).

*
* *

Ces notions préliminaires établies, nous pouvons aborder l'étude de nos différents groupes de malades.

1° SUJETS INDEMNES DE SYPHILIS. — Et, d'abord, la réaction de floculation est-elle spécifique? Ne peut-on la trouver positive en dehors de la syphilis? Nous avons pris, au hasard des consultations, 63 sujets chez lesquels l'observation la plus

(1) Arthur VERNES. *Loc. cit.*

(2) En mars 1924, alors que le présent travail était déjà sous presse, M. le Dr Vernes (*Travaux et publications de l'Institut prophylactique*, fasc. 3, La Portée sociale et la mesure de l'infection syphilitique, Paris, Maloine) a jugé bon de modifier son interprétation primitive et de donner une valeur aux indications basses de l'échelle de floculance au-dessous de 7 et même jusqu'à 1. Nous n'en maintenons pas moins l'interprétation que nous venons d'exposer, ayant constaté que des sérums normaux peuvent donner jusqu'à 6 de floculation et estimant qu'à étudier ainsi la valeur de la réaction aux degrés inférieurs de l'échelle, on lui fait perdre de sa spécificité.

minutieuse, confirmée par les réactions de Hecht, de Wassermann et de Calmette, ne nous a révélé aucune trace de syphilis. Leur sérum est toujours resté négatif à la floculation; nous avons constaté, en effet :

0 de précipité	40 fois
1 —	7 —
2 —	5 —
3 —	7 —
4 —	2 —
5 —	1 —
6 —	1 —

Ainsi dans plus des deux tiers des cas, il n'y avait pas de précipité du tout et 4 fois seulement le poids en était supérieur à 3, sans cependant qu'ait jamais été dépassée cette floculabilité légère que peuvent donner des sérums normaux. Est-ce à dire que la floculation soit absolument spécifique et qu'on ne puisse la trouver positive dans des cas spéciaux, pian, lèpre (1), paludisme, trypanosomiasés, etc...? Nous ne voudrions pas l'affirmer. Mais il nous paraît qu'elle a tout au moins pratiquement une spécificité suffisante dans les conditions ordinaires où on est appelé à la rechercher.

2° SYPHILIS PRIMAIRE. — Nous avons examiné 25 malades porteurs de chancres datant de dix jours à six semaines et n'ayant encore subi aucun traitement. Dans 13 cas la floculation, comme le Hecht, a été nettement positive avec des poids de précipité variant de 18 à 102. Chez deux malades atteints l'un d'un chancre de quinze jours avec tréponèmes, l'autre d'un chancre en voie de cicatrisation, et complètement positifs avec le Hecht, elle est restée douteuse, les poids de précipité 8 et 9 étant insuffisants, ainsi que nous l'avons vu, pour affirmer la syphilis. Enfin dix fois nous avons trouvé le Vernes négatif contre 5 Hecht entièrement positifs, 3 partiellement positifs et

(1) M. le professeur Jeanselme a bien voulu nous donner tout récemment à examiner le sérum de 8 malades de son service atteints de lèpre et chez lesquels, d'après lui, la syphilis est hors de cause. Le résultat de ces examens sera publié ultérieurement. Nous croyons pouvoir indiquer déjà ici qu'il nous a montré une correspondance assez exacte entre la réaction de Vernes et celles de Wassermann et de Hecht avec des indices de floculation allant de 1 jusqu'à 97. En ce qui concerne la lèpre la floculation ne semble donc pas plus strictement spécifique que le W.-R.

2 seulement négatifs. Ainsi 8 fois sur 10 la flocculation s'est trouvée complètement en défaut par rapport au Hecht :

AGE DU CHANCRE	TRÉPONÈMES	VERNES	HECHT	W.-R.
15 jours.	—	0	++	»
15 jours.	+	0	++	0
3 semaines	+	0	+++	»
1 mois.	+	0	0	»
1 mois.	+	1	0	»
?	»	1	+	»
6 semaines (3 jours avant la roséole).	»	3	+++	+++
15 jours.	»	4	+++	»
6 semaines	»	5	+++	»
6 semaines	»	6	+++	»

Si nous rapprochons tous ces résultats dans un tableau d'ensemble nous obtenons, pour la syphilis primaire, les pourcentages suivants :

	VERNES p. 100	HECHT p. 100
Résultats positifs.	52	76
— positifs partiels	8	16
— négatifs	40	8

Il en résulte avec évidence que la réaction de flocculation est beaucoup moins sensible que la réaction de Hecht et qu'elle est beaucoup moins apte que celle-ci à déceler de façon précoce une syphilis débutante, comme si les modifications sériques qui la provoquent apparaissaient plus tardivement encore que celles qui donnent lieu aux autres réactions.

Parmi les malades restés négatifs, en effet, si quelques-uns étaient porteurs de chancres relativement récents, d'autres étaient déjà arrivés presque à la fin de la période primaire. Une de nos observations montre d'une façon particulièrement manifeste l'insuffisance de la flocculation, encore négative à trois jours de la roséole :

Bess..., chancre syphilitique typique de six semaines; Hecht, W.-R. et Calmette complètement positif, mais *Vernes négatif* avec 3 seulement de *précipité*; or, trois jours après cet examen, une roséole des plus nettes apparaît et le Vernes monte brusquement à 469 (1).

(1) Cette observation est analogue à celle qu'a rapportée M. Ravaut à la Société de Dermatologie (séance du 9 novembre 1922); nous voyons que la réaction peut se transformer complètement dans l'espace de trois jours.

Par contre, et nous aurons lieu de le répéter, dès que la réaction de floculation devient positive, son champ d'observation s'étend considérablement. Déjà à la période primaire nous la voyons s'étendre sur 84° et monter en quelques jours de 3 à 109° à l'éclosion des premiers accidents secondaires, alors que les méthodes classiques ne nous donnent qu'une indication uniforme. Mais à quoi correspondent ces variations? Ce n'est pas au degré d'intensité de la lésion en évolution, car tous les chancres que nous avons examinés différaient peu cliniquement. Ce n'est pas non plus à son ancienneté ni à l'imminence de la généralisation secondaire puisque nous avons obtenu les chiffres sensiblement équivalents de :

Pour 4 chancres de 10 à 15 jours	48 à 88
Pour 3 chancres de 1 mois	23 à 70
Pour 4 chancres de 6 semaines	19 à 80

et celui de 3 *seulement à la veille de la roséole*. Nous verrons plus tard si les syphilis à forte floculation initiale présentent une résistance particulière au traitement.

3° SYPHILIS SECONDAIRE. — 40 malades atteints d'accidents secondaires cutanéomuqueux et examinés avant tout traitement, ont tous fourni, comme il est habituel, des réactions de Hecht, W.-R. et Calmette complètement positives. Chez tous également la floculation a confirmé la syphilis, mais à des degrés divers.

Chez l'un d'eux en effet, atteint de roséole avec céphalée et chute des cheveux, nous n'avons trouvé que 13 de précipité. Voilà donc un malade, en pleine évolution de sa syphilis, pour lequel le laboratoire, ignorant les circonstances cliniques et réduit à une seule recherche de floculation, n'aurait donné qu'une réponse sinon négative, du moins douteuse. On ne peut en tout cas que s'étonner d'un chiffre si faible qui contraste avec les résultats des autres réactions et aussi avec les chiffres élevés constatés chez la plupart des syphilitiques secondaires.

Les 39 autres étaient plus nettement positifs avec des indices de floculation variant de 18 à 139 et ainsi répartis :

Au-dessous de 30	2 cas
De 30 à 70	11 cas
De 70 à 100	16 cas
Au-dessus de 100	10 cas

Si nous groupons nos malades d'après l'ordre de gravité apparente des symptômes, nous constatons que les poids de précipité varient sensiblement entre les mêmes limites pour les différents groupes; seules les syphilides secundo-tertiaires se tiennent assez constamment dans les degrés élevés :

SYMPTOMES CLINIQUES	POIDS DE PRÉCIPITÉ
Roséole simple	34 à 118
Roséole avec accidents muqueux et phénomènes généraux.	13 à 124
Syphilides secundo-tertiaires	67 à 129

Si, d'autre part, nous considérons seulement les malades présentant un indice de flocculation élevé, nous rencontrons indistinctement parmi ceux, au nombre de 10, qui dépassent 100, toutes les formes cliniques depuis les plus bénignes jusqu'aux plus sévères :

SYMPTOMES CLINIQUES	POIDS DE PRÉCIPITÉ
Syphilide pigmentaire.	103
Chancre phagédénique, roséole intense généralisée . .	104
Roséole discrète, quelques syphilides papuleuses. . . .	107
Roséole au début	109
Roséole et plaques muqueuses	110
Roséole et plaques muqueuses	115
Roséole simple	118
Syphilides papuleuses et plaques muqueuses.	124
Syphilides papuleuses circonécées et plaques muqueuses.	129
Roséole et plaques muqueuses	139

De toutes façons il ne nous semble pas qu'on puisse découvrir de relation entre l'intensité des symptômes et le degré de flocculation.

4° SYPHILIS TERTIAIRE. PARASYPHILIS. TABES. SYPHILIS HÉRÉDITAIRE. — Nous n'avons eu occasion d'examiner qu'un petit nombre de malades de cette catégorie.

Parmi les *tertiaires*, 3 dont l'indice de flocculation (0-3-3) était inférieur à 7 ont donné 1 résultat négatif et 2 positifs partiels avec le Hecht; les 7 autres étaient également positifs par les deux méthodes et par le W.-R. avec des poids de précipité compris entre 76 et 100; soit au total 2 cas sur 10 dans lesquels le Vernes a été moins sensible que le Hecht.

3 *tabétiques*, positifs partiels, d'autre part, nous ont donné respectivement des indices de flocculation de 0, 8 et 20.

Sur 6 malades atteints d'accidents *parasymphilitiques*, nous notons 2 discordances : l'un, faiblement positif au W.-R., était négatif au Vernes (6); l'autre, un mal perforant plantaire, a présenté successivement, avant et après réactivation, 8 et 16 centièmes de milligramme alors que le Hecht et le W.-R. restaient invariablement négatifs.

Enfin 7 *hérédos* ont donné 6 fois des résultats négatifs concordants; le septième, malgré des antécédents nets et des accidents actuels d'ostéite, a été négatif (1) avec le Vernes et aussi avec le W.-R., tandis que le Hecht était positif partiel.

Dans tout ce groupe de 26 malades, nous constatons en résumé 6 résultats discordants : dans 1 cas (mal perforant chez un ancien syphilitique), la floculation a été plus sensible que le Hecht; dans les 5 autres cas, elle lui a été inférieure, tout en se rapprochant davantage du W.-R.

5° SYPHILIS LATENTE. — Nous comprenons sous ce titre tous les malades dont la syphilis ne se manifeste plus depuis plus ou moins longtemps par aucun symptôme, soit par suite de son ancienneté, soit par l'effet du traitement. Ils forment le contingent le plus nombreux de la clientèle de nos polycliniques où ils viennent se présenter périodiquement. L'examen sérologique seul permet de suivre l'évolution de leur infection; d'où l'importance de la sensibilité de la méthode employée pour le pratiquer.

Nous avons réuni 387 cas qui nous ont donné les résultats suivants :

	VERNES	HECHT
Positifs.	22	30
Positifs partiels	23	105
Négatifs	342	248

La proportion des cas positifs (en y comprenant les positifs partiels), rapportée à 100, est donc de 11,6 seulement pour le Vernes, tandis qu'elle atteint 33, plus du triple, pour le Hecht. Quant au W.-R., il donne un chiffre intermédiaire de 17 p. 100.

Si nous examinons de plus près les résultats comparés des deux premières méthodes, nous voyons qu'ils ont été concordants dans un peu plus des deux tiers des cas (279 sur 387).

Ces résultats concordants se divisent en 248 négatifs, 16 positifs partiels et 13 positifs.

Les résultats discordants sont au nombre de 108. Le plus souvent, 97 fois, le Hecht s'est montré d'une sensibilité plus grande que le Vernes, que celui-ci fût entièrement négatif ou seulement positif partiel; 12 de ces sérums ont même donné lieu à une discordance totale, fournissant un Hecht complètement positif avec une flocculation négative (0-0-0-0-0-0-1-1-1-1-3) et cette opposition s'est répétée à des examens successifs :

LAC...

Vernes	0	0	0
Hecht.	+++	+++	+++
W.-R.	+++	++	++

ICH...

Vernes	1	0
Hecht.	++	++

Notons cependant que quelques-uns de ces sérums étaient négatifs au W.-R. comme au Vernes.

Parfois, au contraire, c'est le Vernes qui a indiqué un degré de positivité plus élevé : 4 sérums contenant déjà de 7 à 10 de précipité ont été négatifs avec le Hecht; mais ils l'ont été aussi avec le W.-R. et le Calmette; il s'agit sans doute de ces sérums normalement surflocculants dont l'existence ne fait que rendre plus incertaine l'interprétation de la réaction; 7 autres n'ont donné qu'un résultat positif partiel avec le Hecht, le W.-R. et le Calmette, malgré des poids de précipité de 67 et de 102.

Les sérums positifs présentent d'ailleurs des indices de flocculation extrêmement variés allant du simple au décuple, de 15 à 155, sans qu'il y ait correspondance entre l'intensité des diverses réactions :

POIDS de précipité	PROPORTION de Hecht positif
15 à 50	80 p. 100
51 à 100	50 —
101 à 150	75 —
151 à 155	63 —

Les fortes flocculations ne sont nullement non plus l'apanage, comme on pourrait le croire, des infections présentant un passé

de gravité. Nous les avons observées souvent dans des syphilis restées constamment latentes ou complètement ignorées comme dans le cas suivant :

M^{me} Gaut... (A-666). — Premier mari syphilitique, deux fausses couches; après un deuxième mariage, grossesse normale. En décembre 1922, vient consulter pour une névralgie intercostale : aucun accident, mais W.-R. + + +. En février 1923, nous trouvons H. + + + et V. 137.

Sut..., 5717. — Chancre syphilitique avec W.-R. + + + en novembre 1910; traitement par le Luargol; aucun accident depuis; le 10 mars 1923, nous trouvons H. + + + et V. 102.

Tout au plus sont-elles l'indice, comme nous le verrons tout à l'heure, d'une plus grande résistance au traitement. Quant à leur signification pour l'avenir éloigné des malades, nous n'avons pu suivre assez longtemps les observations pour en juger.

6° SUJETS SUSPECTS OU SANS RENSEIGNEMENTS. — Nous ne ferons que signaler pour mémoire un dernier groupe de 68 malades chez lesquels, faute de renseignements cliniques, nous nous bornerons à constater que, chez eux encore, c'est le Hecht qui nous a donné le plus de résultats positifs et la floculation le moins, le W.-R. se plaçant au point de vue de la sensibilité entre les deux méthodes et plus près de la seconde.

	VERNES p. 100	W.-R. p. 100	HECHT p. 100
Résultats positifs et positifs partiels. .	20	23	33
Résultats négatifs	80	77	67

*
* *

Dans toutes les observations que nous venons de rapporter, nous avons cherché à nous rendre compte sur des cas isolés de la valeur de la réaction de floculation. Il nous reste à étudier les résultats des examens que nous avons pratiqués en série chez un certain nombre de malades, ce qui nous a permis de suivre les variations de leur indice sérologique, en particulier sous l'influence du traitement. Ces malades, au nombre de 64, ont été examinés dès leur arrivée à l'hôpital, puis à intervalles réguliers de quinze jours environ après le début du traitement.

Celui-ci était presque toujours constitué par des injections de sels de bismuth.

I. Dans un certain nombre d'observations, le tiers à peu près, *les tracés sont assez exactement superposables*, c'est-à-dire que les variations de la flocculation et de la réaction de Hecht, sinon leurs valeurs absolues, se correspondent sensiblement. Les tracés suivent, en général, une ligne descendante; plus

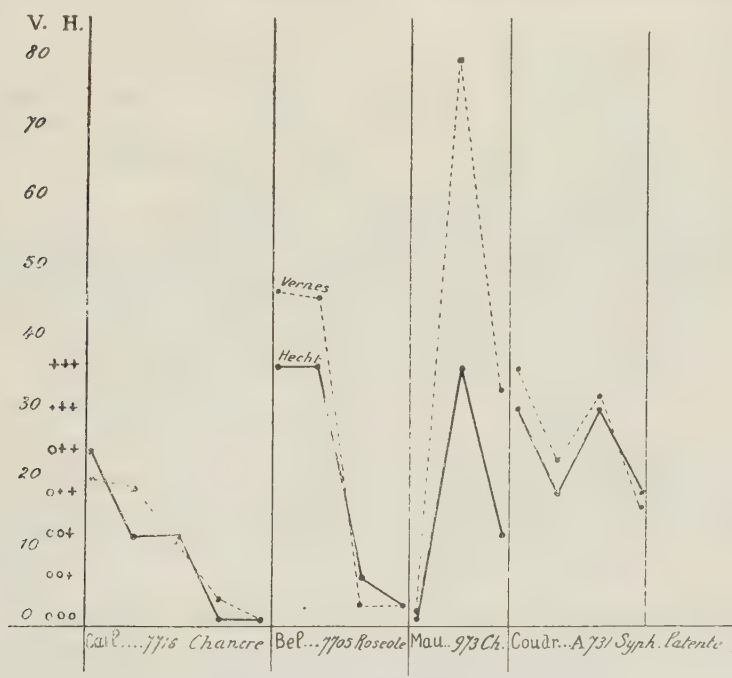


FIG. 1. — Tracés parallèles.

rarement, ils décrivent des oscillations ou restent horizontaux.

Ces variétés sont bien connues; nous en rapportons quelques exemples simplement pour indiquer le parallélisme des résultats obtenus par les deux réactions :

Cail..., 7716, chancre syphilitique . . .	{	$\frac{20}{+++}$	$\frac{19}{..+}$	$\frac{11}{..+}$	$\frac{3}{0}$	$\frac{0}{0}$
Bel..., 7705, roséole	{	$\frac{47}{+++}$	$\frac{46}{+++}$	$\frac{2}{..+}$	$\frac{2}{0}$	
Cor..., 7704, roséole.	{	$\frac{94}{+++}$	$\frac{40}{+++}$	$\frac{..+}{9}$	$\frac{0}{0}$	

Let..., 6185, syphilides circinées.	{	$\frac{129}{+++}$	$\frac{115}{+++}$	$\frac{97}{+++}$	$\frac{80}{+++}$	
Mau..., 973, chancre syphilitique	{	$\frac{1}{0}$	$\frac{80}{+++}$	$\frac{33}{+++}$		
Coudr..., A. 731, syphilis latente	{	$\frac{36}{+++}$	$\frac{23}{+++}$	$\frac{32}{+++}$	$\frac{16}{+++}$	$\frac{12}{+++}$
Du..., 7743, chancre	{	$\frac{0}{0}$	$\frac{2}{0}$	$\frac{0}{0}$		
Bess..., 7728, roséole	{	$\frac{109}{+++}$	$\frac{113}{+++}$	$\frac{95}{+++}$		

II. Plus souvent, *les tracés s'écartent fortement l'un de l'autre*, de sorte que l'évolution de la syphilis prend un aspect différent suivant le procédé par lequel on l'explore et que les indications pronostiques et surtout thérapeutiques qui en découlent peuvent être assez dissemblables.

A. Un premier exemple nous en est donné par les malades chez lesquels le résultat de l'examen initial est négatif avec le Vernes et plus ou moins positif avec le Hecht. Il s'agit le plus



FIG. 2. — Tracés discordants par suite de négativité initiale du Vernes.

souvent de ces syphilitiques primaires chez lesquels nous avons signalé le défaut de sensibilité du Vernes et son retard à déceler les premières modifications sériques; mais nous avons constaté aussi ce fait chez d'anciens syphilitiques. Le tracé du Hecht est alors obliquement descendant; celui du Vernes reste horizontal, quelquefois après une légère ascension initiale due

soit à une réactivation, soit à l'apparition tardive dans le sang des substances flocculantes.

Chev..., 7723, chancre de 15 jours.	{	$\frac{0}{+++}$	$\frac{4}{+++}$	$\frac{0}{0}$	$\frac{0}{0}$
Leg..., A. 759, chancre de 15 jours	{	$\frac{0}{+++}$	$\frac{3}{+++}$	$\frac{1}{..+}$	$\frac{1}{..+} \frac{1}{0} \frac{2}{0}$
Bick..., 7742, chancre de 1 mois.	{	$\frac{6}{+++}$	$\frac{7}{..+}$	»	$\frac{0}{..+} \frac{3}{0}$
Val..., 7744, chancre de 15 jours	{	$\frac{8}{+++}$	$\frac{0}{0}$	$\frac{4}{0}$	$\frac{0}{0} \frac{0}{0} \frac{0}{0}$
Mal..., 7684, syphilis latente	{	$\frac{1}{+++}$	$\frac{1}{..+}$	$\frac{1}{0}$	
Meun..., 7739, chancre de 15 jours	{	$\frac{4}{+++}$	$\frac{10}{+++}$	$\frac{2}{..+}$	
Boul..., 7718, chancre de 6 semaines	{	$\frac{5}{+++}$	$\frac{29}{+++}$	$\frac{0}{..+}$	

Ces tracés constamment négatifs, nous les connaissons bien avec le Hecht chez les malades traités de façon précoce. Ce qui fait l'infériorité du Vernes, c'est qu'il continue à les fournir à une époque plus avancée en allongeant faussement la période préhumorale parce qu'il laisse passer inaperçue une phase initiale de positivité que le Hecht révèle et qu'il permet de suivre plus loin dans son déclin.

B. Dans le plus grand nombre des observations, le résultat initial est à peu près concordant et le tracé part d'une réaction positive pour s'abaisser plus ou moins près de 0. Mais la modalité de cette descente est très différente avec l'une ou l'autre réaction.

La courbe du Vernes, partie souvent d'un degré très élevé, tombe très rapidement dès les premières applications thérapeutiques, la flocculation perdant fréquemment à chaque examen la moitié et plus de sa valeur. C'est une véritable chute vers la négativité, interrompue seulement parfois par le crochet initial que nous avons déjà signalé. Bien différente est la descente en lysis du Hecht; souvent précédée d'une période de plateau, elle s'étale en quelque sorte et coupe vers la deuxième ou la troisième quinzaine la courbe du Vernes.

Cette différence tient sans doute à ce que dans la zone de positivité la flocculation possède, ainsi que nous l'avons reconnu, un champ extrêmement étendu et comporte des degrés descendants que ne peut présenter le Hecht. Mais cela provient surtout d'une sensibilité excessive aux influences thérapeu-

tiques; et cette fragilité de la floculation peut avoir de graves conséquences si elle induit le médecin à admettre trop hâtive-

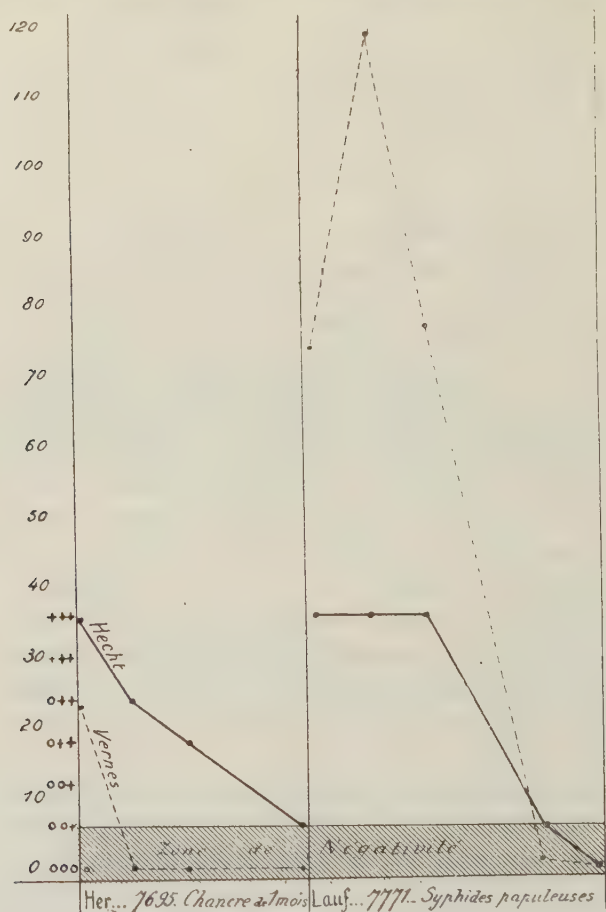


FIG. 3. — Tracés discordants par chute rapide du Vernes quelquefois après crochet ascendant.

ment l'efficacité du traitement et l'empêche de le prolonger assez longtemps.

C'est ce que montre bien la comparaison de la suite des tracés. Tantôt en effet le Hecht continuant à s'abaisser devient négatif lui aussi, mais plusieurs semaines après le Vernes.

Her..., 7695, chancre de 1 mois $\left\{ \begin{array}{cccc} \frac{23}{+++} & \frac{0}{.++} & \frac{0}{.++} & \frac{0}{..+} \end{array} \right.$

Lauf..., 7771, syphilides papuleuses.	{	$\frac{74}{+++}$	$\frac{119}{+++}$	$\frac{77}{+++}$	$\frac{1}{..+}$	$\frac{0}{0}$
---	---	------------------	-------------------	------------------	-----------------	---------------

Tantôt sa négativité ne se maintient pas; après cessation du traitement par exemple, il survient une rechute sérique qui passe complètement inaperçue avec le Vernes.

Lag..., A. 800, chancre de 15 jours . . .	{	$\frac{18}{+++}$	$\frac{62}{+++}$	$\frac{19}{..+}$	$\frac{0}{..+}$	$\frac{2}{..+}$	$\frac{9}{..+}$
Lois..., 7720, chancre de 6 semaines . .	{	$\frac{80}{+++}$	$\frac{43}{+++}$	$\frac{11}{..+}$	$\frac{0}{..+}$	»	$\frac{0}{..+}$
Herd..., A. 720, plaques muqueuses . .	{	$\frac{60}{+++}$	$\frac{32}{+++}$	$\frac{2}{..+}$	$\frac{0}{..+}$	$\frac{2}{..+}$	$\frac{4}{..+}$

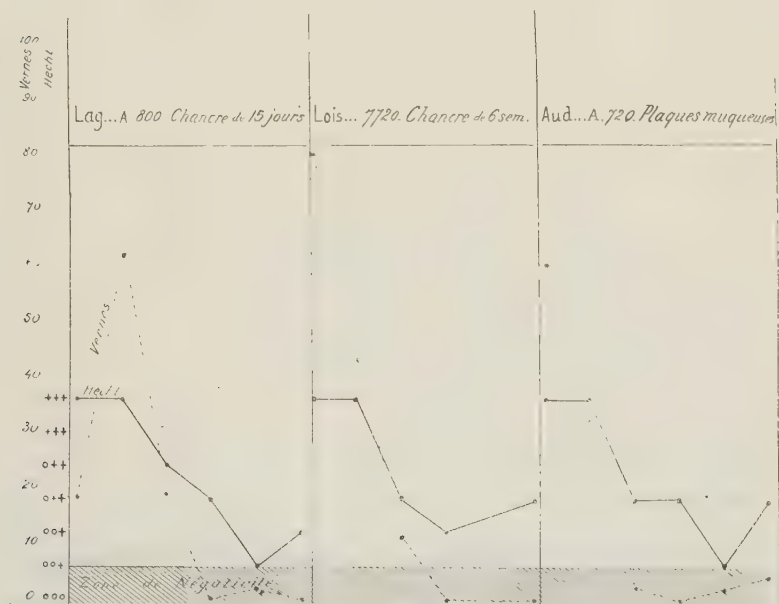


FIG. 4. — Tracés discordants. Chute rapide du Vernes.
Rechute sérique décelée seulement par le Hecht.

Tantôt enfin, et nous en avons de très nombreux exemples, il ne fait que s'infléchir légèrement sous l'action répétée du traitement, restant longtemps positif puis finissant par devenir positif partiel alors que le Vernes est depuis longtemps négatif. Nous l'avons constaté chez la plupart de nos syphilitiques secondaires. On sait combien ces malades sont habituellement

séro-résistants et combien ils diffèrent à ce point de vue des syphilitiques primaires, différence qui est confirmée par l'inégal succès du traitement abortif. Or avec le Vernes les

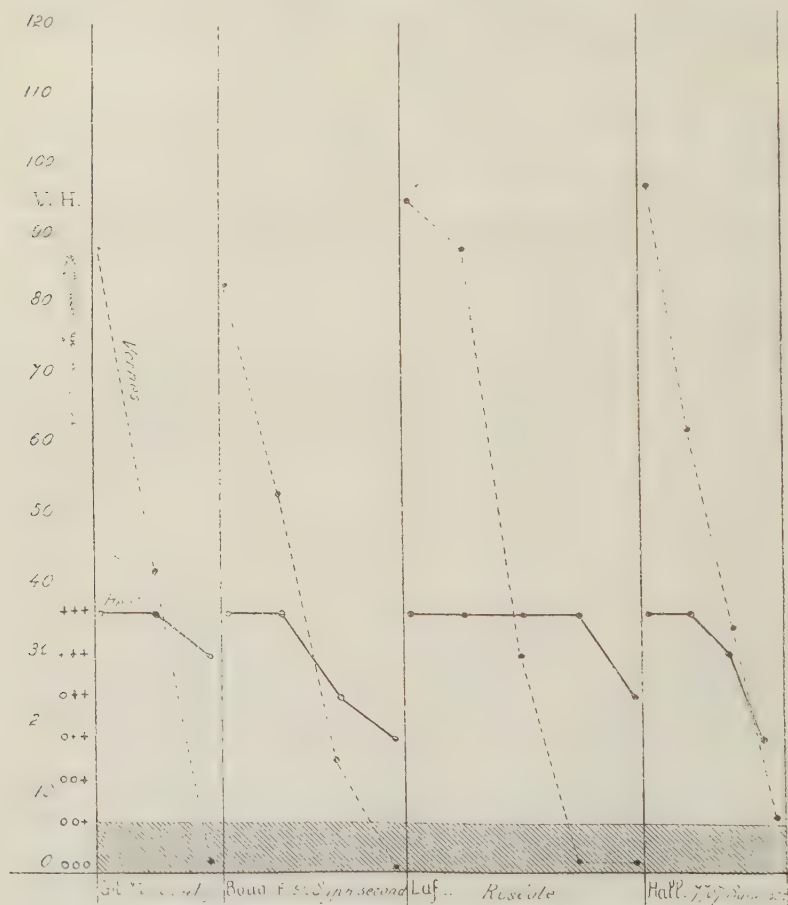


FIG. 5. — Chute rapide du Vernes. Résistance du Hecht.

malades séro-résistants sont exceptionnels, même après une floculation initiale intense, résultats qui, d'après ce que nous savons de l'évolution de la syphilis secondaire, expriment assurément moins exactement que ceux du Hecht l'état réel des malades. Quant au W.-R., il s'est montré lui aussi assez sensible à l'influence du traitement, il se place entre les deux réactions

précédentes. Il faut remarquer d'ailleurs que ce sont précisément les malades offrant une grosse flocculation initiale qui se montrent, avec le Hecht, les plus fortement résistants au traitement. C'est là qu'est surtout la signification des poids élevés de précipité; ils indiquent la nécessité d'un traitement intensif et prolongé, quelle que soit l'évolution ultérieure de la flocculation.

Bur..., 7731, chancre de 6 semaines.	{	$\frac{9}{+++}$	$\frac{4}{+++}$	$\frac{0}{+++}$	(W.-R. .++)
Gil..., 7700, chancre de 15 jours.	{	$\frac{88}{+++}$	$\frac{42}{+++}$	$\frac{4}{+++}$	(W.-R. .++)
Pat..., F. 74, roséole, plaques muqueuses.	{	$\frac{79}{+++}$	$\frac{65}{+++}$	$\frac{0}{+++}$	$\frac{0}{+++}$
Boug..., F. 191, syphilis secondaire.	{	$\frac{83}{+++}$	$\frac{53}{+++}$	$\frac{15}{+++}$	$\frac{0}{+++}$
Laf..., roséole	{	$\frac{95}{+++}$	$\frac{88}{+++}$	$\frac{30}{+++}$	$\frac{4}{+++}$ $\frac{4}{+++}$
Hall..., 7707, syphilides érosives	{	$\frac{97}{+++}$	$\frac{62}{+++}$	$\frac{34}{+++}$	$\frac{7}{+++}$ $\frac{3}{+++}$
Mel..., F. 197, roséole, plaques muqueuses.	{	$\frac{110}{+++}$	$\frac{84}{+++}$	$\frac{4}{+++}$	
Clah..., 7710, syphilides papuleuses et muqueuses.	{	$\frac{124}{+++}$	$\frac{76}{+++}$	$\frac{78}{+++}$	$\frac{3}{+++}$ $\frac{0}{+++}$
J..., F. 203, roséole, plaques mu- queuses.	{	V. . . 139	5	4	
	{	H. . . +++	++	++	
	{	W. . . +++	..+	0	
	{	C. . . "	++	..+	

C. Nous réunissons dans un troisième groupe les observations dans lesquelles la courbe sérologique se maintient constamment dans la zone positive. Celle du Hecht ne peut être qu'uniformément horizontale. Celle du Vernes au contraire, grâce à son champ d'observation dans cette zone, présente des variations fort intéressantes qui permettent de suivre, dans le silence des autres méthodes, les effets de la thérapeutique. Ce sont :
soit des oscillations

St..., 7734, roséole, plaques muqueuses	{	$\frac{90}{+++}$	$\frac{76}{+++}$	$\frac{32}{+++}$	$\frac{17}{+++}$
Gauth..., A. 666, syphilis latente	{	$\frac{137}{+++}$	$\frac{130}{+++}$	$\frac{120}{+++}$	$\frac{30}{+++}$ $\frac{134}{+++}$

soit une ligne descendante, indice précoce de l'efficacité d'un traitement

Mos..., 7732, roséole	{	$\frac{98}{+++}$	$\frac{50}{+++}$	$\frac{36}{+++}$
Corr..., 7713, roséole	{	$\frac{96}{+++}$	$\frac{72}{+++}$	$\frac{42}{+++}$

V. H.

100

90

80

70

60

50

40

+++

0++

20

0++

0000

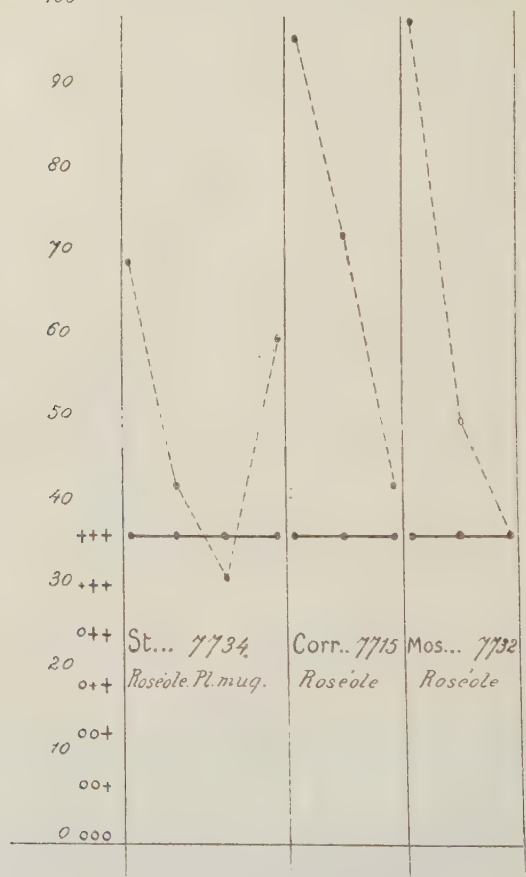


FIG. 6. — Tracés positifs avec oscillations du Vernes.

soit parfois une ligne ascendante, due sans doute à une réactivation

Goss..., A. 623, syphilis tertiaire $\left\{ \begin{array}{cc} 80 & 130 \\ +++ & +++ \end{array} \right.$

III. Dans tous les faits que nous avons envisagés jusqu'ici, l'orientation générale des tracés reste la même, il n'y a pas *contradiction absolue* entre les résultats de la floculation et ceux des autres réactions. Nous avons observé cette contra-

diction sous deux formes que nous signalerons en terminant.

1° Vernes uniformément négatif avec Hecht et W.-R. uniformément positif. Nous en avons un exemple typique dans lequel les résultats contradictoires se sont répétés à trois reprises:

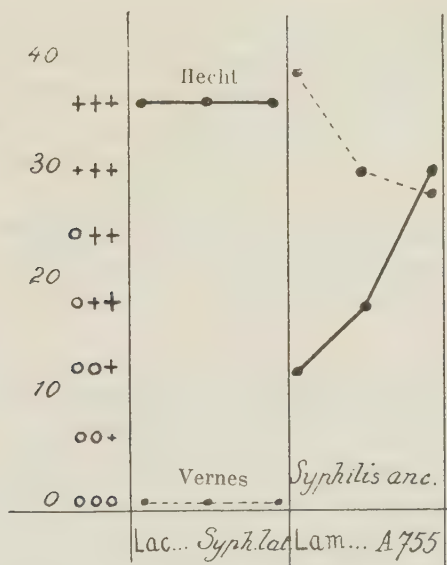


FIG. 7. — Tracés en opposition complète.

Lac..., syphilis latente	V.	0	0	0
	H.	+++	+++	+++
	W.-R. . . .	+++	+++	+++

2° Vernes descendant avec Hecht ascendant :

Laus..., A. 755, syphilis très ancienne, leucoplasie.	H.+	..+	+++
	V. . .	39	30	28

CONCLUSIONS.

I. La mesure pondérale de la flocculation, pratiquée avec la technique rigoureuse et l'instrumentation de Vernes, est une méthode simple, facile à exécuter, permettant d'examiner en série un grand nombre de sérums. Elle donne dans tous les cas, même avec les sérums anticomplémentaires, des résultats

précis, concordants entre différents laboratoires pour un même sérum et comparables entre eux pour un même malade.

II. Elle est pratiquement spécifique : nous n'avons jamais constaté, la lèpre mise à part, de résultats positifs en dehors de la syphilis.

III. Au point de vue de la valeur diagnostique, elle est nettement inférieure aux méthodes classiques, au Wassermann dont elle se rapproche et surtout à la réaction de Hecht. S'il est en effet de règle de la trouver plus ou moins fortement positive dans les syphilis en pleine activité, pendant la période secondaire par exemple, elle est fréquemment négative à la période primaire, ou bien au cours des syphilis latentes, ou encore dans les syphilis traitées, alors que le Hecht et même le Wassermann sont déjà ou encore fortement positifs.

Cette infériorité est due à un défaut de sensibilité de la réaction de floculation aux premières modifications sériques, soit lorsque celles-ci commencent à apparaître au début de la syphilis, soit lorsqu'elles tendent à s'effacer sous l'influence du temps ou du traitement. Le seuil de la positivité est notablement plus élevé pour elle que pour les autres réactions. C'est à ce défaut de sensibilité et non pas à un vice de principe que nous rapportons les erreurs que nous avons constatées et qui sont, croyons-nous, celles qui ont été déjà signalées à son passif.

Il n'en reste pas moins que la réaction de floculation est un guide insuffisant et parfois infidèle, aussi bien pour l'établissement du diagnostic que pour le contrôle du traitement. Loin de pouvoir remplacer les méthodes classiques, elle est moins sensible qu'elle, et ne doit être employée que concurremment avec elles.

IV. Par contre, dans la zone de positivité, elle offre l'avantage de posséder un champ d'observation très étendu et de distinguer toute une série de degrés entre les sérums positifs. Elle permet ainsi de reconnaître de façon précoce et dès son stade initial l'action du traitement.

V. Mais ce serait une erreur de croire que la mesure pondérale de la floculation puisse servir à mesurer l'infection syphilitique. Malgré son apparence mathématique, elle ne constitue nullement une méthode de syphilimétrie. L'abon-

dance de la flocculation n'est en rapport direct ni avec l'intensité des lésions actuelles dans les syphilis en évolution, ni avec la gravité des antécédents dans les syphilis latentes. Pas plus que les méthodes classiques de séro-diagnostic, la réaction de flocculation n'est capable d'exprimer à elle seule l'état réel des malades. Nous ne savons pas exactement quelles relations existent entre l'intensité de l'infection syphilitique et les modifications sanguines que décèlent les épreuves sérologiques. Celles-ci apportent à la clinique un complément d'informations, elles ne sauraient la supplanter.

(Travail du Laboratoire et du service de M. L. Fournier
à l'hôpital Cochin, année 1923.)

Travailleur	Sexe	Age	Antécédents	Travail	Travail	Travail	Travail
12.0	2	162	100	100	100	100	100
12.0	1	151	100	100	100	100	100
12.0	2	147	100	100	100	100	100
12.0	1	140	100	100	100	100	100
12.0	1	139	100	100	100	100	100
12.0	1	134	100	100	100	100	100
12.0	1	133	100	100	100	100	100
12.0	1	132	100	100	100	100	100
12.0	1	131	100	100	100	100	100
12.0	1	130	100	100	100	100	100
12.0	1	129	100	100	100	100	100
12.0	1	128	100	100	100	100	100
12.0	1	127	100	100	100	100	100
12.0	1	126	100	100	100	100	100
12.0	1	125	100	100	100	100	100
12.0	1	124	100	100	100	100	100
12.0	1	123	100	100	100	100	100
12.0	1	122	100	100	100	100	100
12.0	1	121	100	100	100	100	100
12.0	1	120	100	100	100	100	100
12.0	1	119	100	100	100	100	100
12.0	1	118	100	100	100	100	100
12.0	1	117	100	100	100	100	100
12.0	1	116	100	100	100	100	100
12.0	1	115	100	100	100	100	100
12.0	1	114	100	100	100	100	100
12.0	1	113	100	100	100	100	100
12.0	1	112	100	100	100	100	100
12.0	1	111	100	100	100	100	100
12.0	1	110	100	100	100	100	100
12.0	1	109	100	100	100	100	100
12.0	1	108	100	100	100	100	100
12.0	1	107	100	100	100	100	100
12.0	1	106	100	100	100	100	100
12.0	1	105	100	100	100	100	100
12.0	1	104	100	100	100	100	100
12.0	1	103	100	100	100	100	100
12.0	1	102	100	100	100	100	100
12.0	1	101	100	100	100	100	100
12.0	1	100	100	100	100	100	100
12.0	1	99	100	100	100	100	100
12.0	1	98	100	100	100	100	100
12.0	1	97	100	100	100	100	100
12.0	1	96	100	100	100	100	100
12.0	1	95	100	100	100	100	100
12.0	1	94	100	100	100	100	100
12.0	1	93	100	100	100	100	100
12.0	1	92	100	100	100	100	100
12.0	1	91	100	100	100	100	100
12.0	1	90	100	100	100	100	100
12.0	1	89	100	100	100	100	100
12.0	1	88	100	100	100	100	100
12.0	1	87	100	100	100	100	100
12.0	1	86	100	100	100	100	100
12.0	1	85	100	100	100	100	100
12.0	1	84	100	100	100	100	100
12.0	1	83	100	100	100	100	100
12.0	1	82	100	100	100	100	100
12.0	1	81	100	100	100	100	100
12.0	1	80	100	100	100	100	100
12.0	1	79	100	100	100	100	100
12.0	1	78	100	100	100	100	100
12.0	1	77	100	100	100	100	100
12.0	1	76	100	100	100	100	100
12.0	1	75	100	100	100	100	100
12.0	1	74	100	100	100	100	100
12.0	1	73	100	100	100	100	100
12.0	1	72	100	100	100	100	100
12.0	1	71	100	100	100	100	100
12.0	1	70	100	100	100	100	100
12.0	1	69	100	100	100	100	100
12.0	1	68	100	100	100	100	100
12.0	1	67	100	100	100	100	100
12.0	1	66	100	100	100	100	100
12.0	1	65	100	100	100	100	100
12.0	1	64	100	100	100	100	100
12.0	1	63	100	100	100	100	100
12.0	1	62	100	100	100	100	100
12.0	1	61	100	100	100	100	100
12.0	1	60	100	100	100	100	100
12.0	1	59	100	100	100	100	100
12.0	1	58	100	100	100	100	100
12.0	1	57	100	100	100	100	100
12.0	1	56	100	100	100	100	100
12.0	1	55	100	100	100	100	100
12.0	1	54	100	100	100	100	100
12.0	1	53	100	100	100	100	100
12.0	1	52	100	100	100	100	100
12.0	1	51	100	100	100	100	100
12.0	1	50	100	100	100	100	100
12.0	1	49	100	100	100	100	100
12.0	1	48	100	100	100	100	100
12.0	1	47	100	100	100	100	100
12.0	1	46	100	100	100	100	100
12.0	1	45	100	100	100	100	100
12.0	1	44	100	100	100	100	100
12.0	1	43	100	100	100	100	100
12.0	1	42	100	100	100	100	100
12.0	1	41	100	100	100	100	100
12.0	1	40	100	100	100	100	100
12.0	1	39	100	100	100	100	100
12.0	1	38	100	100	100	100	100
12.0	1	37	100	100	100	100	100
12.0	1	36	100	100	100	100	100
12.0	1	35	100	100	100	100	100
12.0	1	34	100	100	100	100	100
12.0	1	33	100	100	100	100	100
12.0	1	32	100	100	100	100	100
12.0	1	31	100	100	100	100	100
12.0	1	30	100	100	100	100	100
12.0	1	29	100	100	100	100	100
12.0	1	28	100	100	100	100	100
12.0	1	27	100	100	100	100	100
12.0	1	26	100	100	100	100	100
12.0	1	25	100	100	100	100	100
12.0	1	24	100	100	100	100	100
12.0	1	23	100	100	100	100	100
12.0	1	22	100	100	100	100	100
12.0	1	21	100	100	100	100	100
12.0	1	20	100	100	100	100	100
12.0	1	19	100	100	100	100	100
12.0	1	18	100	100	100	100	100
12.0	1	17	100	100	100	100	100
12.0	1	16	100	100	100	100	100
12.0	1	15	100	100	100	100	100
12.0	1	14	100	100	100	100	100
12.0	1	13	100	100	100	100	100
12.0	1	12	100	100	100	100	100
12.0	1	11	100	100	100	100	100
12.0	1	10	100	100	100	100	100
12.0	1	9	100	100	100	100	100
12.0	1	8	100	100	100	100	100
12.0	1	7	100	100	100	100	100
12.0	1	6	100	100	100	100	100
12.0	1	5	100	100	100	100	100
12.0	1	4	100	100	100	100	100
12.0	1	3	100	100	100	100	100
12.0	1	2	100	100	100	100	100
12.0	1	1	100	100	100	100	100

LES VACCINATIONS ANTIRABIKES

A L'INSTITUT PASTEUR EN 1923

par JULES VIALA, Préparateur au Service antirabique.

Pendant l'année 1923, 727 personnes ont subi le traitement antirabique à l'Institut Pasteur de Paris : aucune mort n'a été signalée.

La statistique s'établit donc ainsi :

Personnes traitées	727
Mort	0
Mortalité p. 100.	0

Le tableau ci-dessous indique les résultats généraux des vaccinations depuis l'origine :

ANNÉE	PERSONNES traitées	MORTS	MORTALITÉ p. 100	ANNÉE	PERSONNES traitées	MORTS	MORTALITÉ p. 100
1886	2.671	25	0,94	1905	721	3	0,41
1887	2.770	14	0,79	1906	772	1	0,43
1888	1.622	9	0,55	1907	786	3	0,38
1889	1.830	7	0,38	1908	824	1	0,19
1890	1.540	5	0,32	1909	467	1	0,21
1891	1.559	4	0,25	1910	401	0	0,00
1892	1.790	4	0,22	1911	341	1	0,29
1893	1.648	6	0,36	1912	395	0	0,00
1894	1.387	7	0,50	1913	330	0	0,00
1895	1.520	5	0,38	1914	373	0	0,00
1896	1.308	4	0,30	1915	654	1	0,15
1897	1.529	6	0,39	1916	1.388	3	0,21
1898	1.465	3	0,20	1917	1.543	4	0,26
1899	1.614	4	0,25	1918	1.803	3	0,16
1900	1.420	4	0,28	1919	1.813	3	0,16
1901	1.321	5	0,38	1920	1.126	6	0,53
1902	1.005	2	0,18	1921	998	1	0,10
1903	628	2	0,32	1922	754	0	0,00
1904	755	3	0,39	1923	727	0	0,00

Les personnes traitées à l'Institut Pasteur sont divisées en trois catégories :

Catégorie A. — La rage de l'animal mordeur a été expérimentalement constatée par le développement de la maladie chez des animaux mordus par lui ou inoculés avec son bulbe.

Catégorie B. — La rage de l'animal mordeur a été constatée par examen vétérinaire.

Catégorie C. — L'animal mordeur est suspect de rage.

Nous donnons ci-après la répartition entre ces catégories des personnes traitées en 1923 :

ANNÉE 1923	MORSURES à la tête			MORSURES aux mains			MORSURES aux membres			TOTAUX		
	Traités	Morts	Mortalité p. 100	Traités	Morts	Mortalité p. 100	Traités	Morts	Mortalité p. 100	Traités	Morts	Mortalité p. 100
Catégorie A. .	5	0	0	40	0	0	45	0	0	90	0	0
Catégorie B. .	21	0	0	158	0	0	184	0	0	363	0	0
Catégorie C. .	19	0	0	135	0	0	120	0	0	274	0	0
	45	0	0	333	0	0	349	0	0	727	0	0

Répartition par départements des 727 personnes
mordues en France.

Ain	2	Eure	7
Aisne	2	Eure-et-Loir	6
Allier	8	Finistère	34
Ardennes	14	Gironde	3
Aube	2	Ille-et-Vilaine	25
Calvados	5	Indre	6
Cantal	18	Indre-et-Loire	4
Charente	4	Loiret	10
Corrèze	12	Loire-Inférieure	20
Côte-d'Or	4	Loir-et-Cher	3
Côtes-du-Nord	17	Lot	20
Creuse	3	Maine-et-Loire	6
Dordogne	3	Manche	4
Doubs	3	Marne (Haute-)	5

Mayenne	4	Saône-et-Loire	14
Meurthe-et-Moselle	3	Seine	238
Meuse	19	Seine-et-Oise	58
Morbihan	45	Seine-Inférieure	16
Nièvre	8	Sèvres (Deux-)	5
Oise	9	Somme	7
Orne	6	Vienne	9
Puy-de-Dôme	13	Vienne (Haute-)	6
Rhin	11	Vosges	5

Le Gérant : G. MASSON.